

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR



TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

**Desarrollo de un potencióstato para la adquisición
y tratamiento de la señal de biosensores
enzimáticos**

Luis Ortiz Fuentes

Octubre 2013

Desarrollo de un potencióstato para la adquisición y tratamiento de la señal de biosensores enzimáticos

AUTOR: Luis Ortiz Fuentes

DIRECTOR: Guillermo González de Rivera Peces

HCTLab

Dpto. Tecnología Electrónica y de las Comunicaciones

Escuela Politécnica Superior

Universidad Autónoma de Madrid

Octubre 2013

*Dedicado a
mis padres*

Agradecimientos

Quiero dar las gracias a todo el equipo del HCTLab, por prestarme sus instalaciones y medios, sin los cuales este proyecto no habría llegado a ningún lado. En especial, quiero darle las gracias al director de este trabajo, Guillermo González de Rivera Peces, por ayudarme en todo momento, aportando ideas y conocimientos, que han sido claves para la consecución de los objetivos marcados, y por supuesto, por confiar en mi.

Gracias por partida doble a Nasib Fahim Fernández, por ser miembro del HCTLab, y por ser mi amigo desde hace muchos años. Su ayuda para la fabricación de los PCBs, y sus consejos sobre soldadura, han sido de gran ayuda.

Gracias también a todos los miembros de Inbea Biosensores S.L., por prestarme también sus instalaciones y medios para este proyecto. En especial, gracias a Eva Vargas Orgaz, por responder a las innumerables preguntas sobre química que le he formulado durante el desarrollo del trabajo.

Por supuesto, gracias a mis padres, por todos estos años de sacrificio para ofrecerme una buena educación. Sé que estáis orgullosos de mí. Yo también estoy orgulloso de vosotros.

Y finalmente, gracias a todos mis amigos, tanto de la carrera como de fuera de la misma, por todos estos años de aventuras y desventuras juntos. Gracias por aguantar mis continuas negativas a salir en fechas próximas a exámenes y entregas de trabajos/prácticas.

Resumen

Este trabajo se enmarca dentro de un proyecto más grande, que pretende llevar los biosensores enzimáticos amperométricos a las líneas de producción de alimentos, ya que suponen una clara ventaja frente a otros métodos. A día de hoy, no existe ninguna instrumentación capaz de realizar las tareas que se requieren para ello, por lo que supone un reto importante.

El proyecto se divide en varias etapas. La primera consiste en obtener un potencióstato, que es el dispositivo capaz de controlar una célula electroquímica, realizando a su vez la adquisición y tratamiento de la señal generada por el experimento. El diseño de este dispositivo requiere especial atención, pues las señales a medir son de una magnitud muy pequeña.

La segunda etapa consiste en la consecución de un sistema automático, capaz de medir de manera continua una muestra, sin necesidad de intervención humana.

La tercera y última etapa, es la ampliación del sistema anterior, para adaptarlo a las industrias en las que no se pueda aplicar debido a la necesidad de realizar un pretratamiento de la muestra.

Este trabajo de fin de máster se centra en la primera etapa. Por ello, el objetivo principal ha sido el diseño, fabricación y validación de un sistema de adquisición y control (potenciostato), para células electroquímicas que hacen uso de biosensores enzimáticos amperométricos. Durante el trabajo, se han afrontado los problemas de control y de tratamiento y adquisición de señal característicos de este sistema, y se han realizado las pruebas oportunas para validar el trabajo realizado.

Índice general

Agradecimientos	I
Resumen	III
Lista de figuras	XI
Lista de tablas	XIII
I Trabajo desarrollado	1
1. Introducción	3
1.1. Motivación	3
1.2. Objetivos	5
1.3. Organización de la memoria	6
2. Estado del arte	7
2.1. Biosensores enzimáticos	7
2.2. Técnica electroquímica	8
2.2.1. Amperometría	8
2.2.2. Voltametría	9
2.2.3. Célula electroquímica	10
2.3. Potenciostato	11
2.3.1. Potenciostato con conversor I/V	12

2.3.2. Potenciostato con espejo de corriente	13
2.4. Sistemas FIA	13
3. Desarrollo del hardware	15
3.1. Planteamiento	15
3.2. Técnicas de reducción de ruido	16
3.3. Placas desarrolladas	18
3.3.1. Fuente de alimentación	18
3.3.1.1. Selección de componentes	18
3.3.1.2. Diseño del PCB	19
3.3.2. Microcontrolador	20
3.3.2.1. Selección de componentes	20
3.3.2.2. Diseño del PCB	21
3.3.3. Medición de corriente	22
3.3.3.1. Selección de componentes	23
Amplificador operacional	23
Potenciómetro digital	24
Conversor ADC (<i>Analog to Digital Converter</i>)	25
3.3.3.2. Diseño del PCB	26
3.3.4. Control de potencial	27
3.3.4.1. Selección de componentes	29
Amplificador operacional para el seguidor de tensión . .	29
Amplificador operacional para el controlador	29
Conversor DAC (<i>Digital to Analog Converter</i>)	30
3.3.4.2. Diseño del PCB	30
3.4. Protocolos de comunicación	31
3.4.1. Comunicación interna / bus I^2C	31
3.4.2. Comunicación externa / bus USB	32

4. Desarrollo del firmware	35
4.1. Planteamiento	35
4.2. Esquema general	36
4.3. Comunicación USB	37
4.4. Comandos	37
5. Desarrollo del software	39
5.1. Modificaciones realizadas	39
5.2. Inconvenientes de usar el puerto serie	40
5.3. Uso	41
6. Pruebas	45
6.1. Pruebas individuales	45
6.1.1. Fuente de alimentación	45
6.1.2. Microcontrolador	45
6.1.3. Medición de intensidad	46
Calibración del ADC	46
Calibración del potenciómetro digital	46
Comprobación del conversor I/V	46
6.1.4. Control de potencial	47
Calibración del DAC	47
Verificación del seguidor de tensión	47
Verificación del controlador	48
6.2. Pruebas de integración	50
6.2.1. Pruebas sin R	51
6.2.2. Pruebas con R	52
6.3. Conclusiones	53
7. Conclusiones y trabajo futuro	55

Índice general	VIII
7.1. Conclusiones	55
7.2. Trabajo futuro	56
Bibliografía	57
II Apéndices	61
A. Esquemáticos desarrollados	63
B. PCBs desarrollados	69

Índice de figuras

1.1. Diferentes técnicas para la determinación de parámetros químicos en alimentos.	4
2.1. Funcionamiento de un biosensor.	7
2.2. Curva típica en un experimento de amperometría.	9
2.3. Curvas típicas en un experimento de voltametría.	10
2.4. Diagrama de una celda electroquímica de dos electrodos.	10
2.5. Detalle de la célula de tres electrodos usada y de los electrodos usados.	11
2.6. Diagrama de una célula de tres electrodos con un potencióstato. . . .	12
2.7. Amplificador de transimpedancia.	12
2.8. Espejo de corriente aplicado a un potencióstato.	13
2.9. Ejemplo de sistema FIA.	14
3.1. Diagrama de la división del diseño en placas interconectadas.	16
3.2. Detalle de las conexiones del integrado TPS54331, indicando dónde se podrían conectar las válvulas, bombas y motores en una futura aplicación del diseño.	19
3.3. Placa de alimentación fabricada con identificadores de los componentes.	20
3.4. Placa del microcontrolador fabricada con identificadores de los componentes.	22
3.5. Amplificador de transimpedancia con ganancia variable.	23
3.6. Detalle del problema de caída de potencial en la conexión del electrodo de trabajo.	26

3.7. Placa de medición de intensidad fabricada con identificadores de los componentes.	27
3.8. Modelo de célula usado durante el desarrollo.	28
3.9. Controlador obtenido para fijar el potencial de la célula.	28
3.10. Placa de control de potencial fabricada con identificadores de los componentes.	30
3.11. Esquema de conexión del bus I^2C	31
5.1. Interfaz de la aplicación de usuario.	40
5.2. Botón de conexión.	41
5.3. Barra de herramientas cuando el potencióstato está conectado.	41
5.4. Panel de configuración de medida.	42
5.5. Botón para iniciar la medida.	42
5.6. Gráfica en la que se muestran los datos capturados.	43
5.7. Botón para detener la medida.	43
5.8. Botón de desconexión.	43
6.1. Funcionamiento del seguidor de tensión con señal en rango (azul - entrada, morado - salida).	47
6.2. Funcionamiento del seguidor de tensión con señal fuera de rango (azul - entrada, morado - salida).	48
6.3. Respuesta del controlador ante señal cuadrada (amarillo - señal de control, rojo - diferencia de potencial real).	49
6.4. Respuesta del controlador ante señal constante (amarillo - señal de control, morado - electrodo de trabajo, azul - electrodo de referencia, verde - electrodo auxiliar, rojo - diferencia de potencial real).	50
6.5. Entorno de pruebas de integración.	50
6.6. Gráfica obtenida al medir sin resistencia entre el electrodo de trabajo y la entrada del operacional del conversor I/V.	51
6.7. Gráficas obtenidas al realizar calibrado y medir material de referencia, usando la resistencia.	53
A.1. Esquemático de la placa de alimentación	65

A.2. Esquemático de la placa del microcontrolador	66
A.3. Esquemático de la placa de control de potencial	67
A.4. Esquemático de la placa de medición de intensidad	68
B.1. Capa superior de la placa de alimentación.	71
B.2. Capa inferior de la placa de alimentación.	71
B.3. Capa superior de la placa del microcontrolador.	72
B.4. Capa inferior de la placa del microcontrolador.	72
B.5. Capa superior de la placa de medición de intensidad.	73
B.6. Capa inferior de la placa de medición de intensidad.	73
B.7. Capa superior de la placa de control del potencial.	74
B.8. Capa inferior de la placa de control del potencial.	74

Índice de cuadros

3.1. Tabla con los valores de intensidad máximos medibles para las tensiones de saturación del operacional (0V y 4V).	25
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Parte I

Trabajo desarrollado

Capítulo 1

Introducción

En este capítulo se exponen las motivaciones de la realización de este trabajo y se enmarca el mismo en su contexto, indicando los objetivos que se desean conseguir. Finalmente, se describe la organización de esta memoria.

1.1. Motivación

Durante los últimos años, tanto consumidores como gobiernos han venido exigiendo a la industria alimentaria una mayor calidad, siendo obligatoria la realización de diversos análisis químicos en los alimentos, tanto en la línea de producción como en el producto final. Si a esto le sumamos la enorme competitividad entre las diferentes empresas del sector, vemos que ellas mismas están interesadas en estos análisis, ya que les permiten la detección de defectos de fabricación y/o tratamiento de sus productos y/o materias primas, pudiendo actuar rápidamente para corregirlos, obteniendo siempre un producto de gran calidad, sin tener que desperdiciar material ni tiempo.

Actualmente, existen diversos métodos para la determinación de dichos parámetros químicos [1], como pueden ser los kits enzimáticos, los métodos HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*) o las técnicas FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*), pero todas ellas tienen algún inconveniente. Por ejemplo, los kits enzimáticos y los métodos HPLC son costosos, requieren personal cualificado e instrumentación también muy costosa. Los métodos FTIR ni siquiera son aplicables, pues su límite de detección no es suficiente para las concentraciones de analito (sustancia a analizar) presentes en los alimentos. Además, ninguna de estas técnicas es lo suficientemente rápida como para ser introducida en la línea de producción.

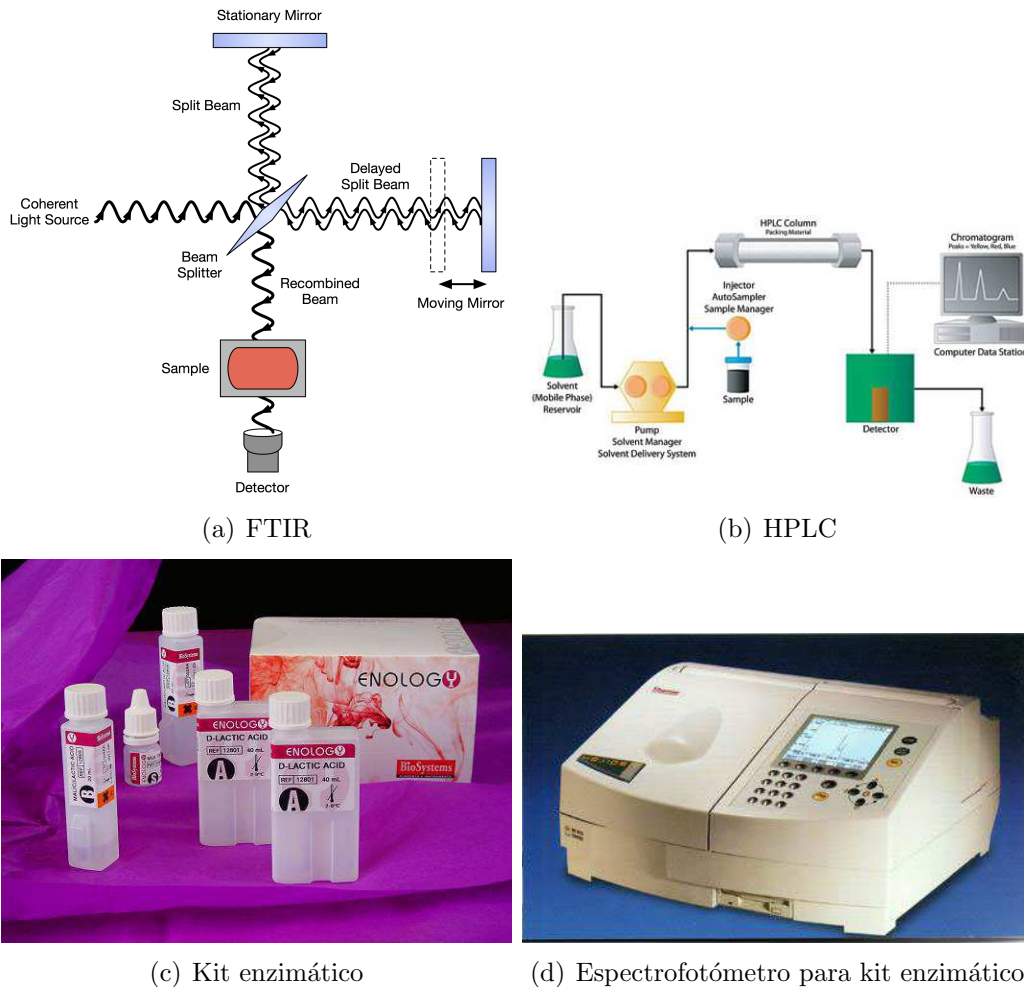


Figura 1.1: Diferentes técnicas para la determinación de parámetros químicos en alimentos.

Sin embargo, en los últimos años se han logrado avances importantes en otra técnica, consistente en el uso de biosensores enzimáticos [2]. Estos avances, con el adecuado desarrollo de la instrumentación necesaria para su uso, permitiría la introducción de esta técnica de análisis en las cadenas de producción, y también sería adecuada para la realización de análisis de producto acabado de manera rápida y fiable. Actualmente, los biosensores de este tipo están siendo desarrollados, pero no hay ningún tipo de instrumentación que facilite su uso, por lo que hoy día, siguen teniendo el inconveniente de requerir personal cualificado. Por ello, y siguiendo las líneas de investigación del grupo de investigación HCTLab [3], del Departamento de Tecnología Electrónica y de las Comunicaciones, perteneciente a la Escuela Politécnica Superior de la Universidad Autónoma de Madrid, este trabajo se enmarca en un ambicioso proyecto para el diseño y desarrollo de un equipo robotizado, capaz de incorporar los biosensores en las líneas de producción de multitud de fabricas.

Este proyecto se realiza de forma conjunta con la empresa “Inbea Biosensores S.L.”, que es una *spin-off* del departamento de Química Analítica de la UCM (*Universidad*

Complutense de Madrid), siendo este departamento uno de los más activos en el área de biosensores en toda España.

1.2. Objetivos

Como se ha indicado en el apartado anterior, el objetivo final del proyecto es el diseño y desarrollo de un equipo robotizado, que mediante el uso de biosensores enzimáticos, sea capaz de monitorizar ciertos parámetros alimentarios sin intervención humana, eliminando así la necesidad de personal cualificado, y evitando la posible introducción de errores humanos. Además, al hacer uso de biosensores, cuya respuesta es mucho más rápida que la de los métodos actualmente usados, el equipo será adecuado para su introducción en la línea de fabricación, situándolo en un lugar claramente aventajado en el mercado, mejorando la competitividad de las fábricas.

El desarrollo de este gran proyecto está dividido en varias etapas:

- **Desarrollo de un potenciostato:** Un potenciostato es el aparato necesario para controlar el uso de los biosensores, aportando a los mismos las condiciones necesarias para su funcionamiento. Así mismo, son los encargados de acondicionar y adquirir la señal generada, de manera que podamos usarla para el fin deseado.
- **Desarrollo de un equipo automático:** Este equipo será capaz de medir de forma continua la concentración de analito presente en una muestra, sin necesitar para ello intervención humana. Podrá ser implantado en algunas industrias alimentarias.
- **Desarrollo de un equipo robotizado:** Se trata del punto y final al proyecto, y aunque parezca similar al equipo anterior, es muy diferente. Este equipo estará destinado a aquellas industrias en las que por algún motivo la muestra no puede ser analizada directamente, y necesita un pretratamiento (disolución, pesado, etc.), de modo que de nuevo, sería necesaria la contratación de personal cualificado. Este equipo se encargará de todas estas tareas.

El presente trabajo se centra en el primer punto, por lo que el objetivo es el desarrollo de un sistema embebido (potenciostato) capaz de adquirir, pre-procesar y tratar la señal generada por un biosensor enzimático. Se explicará mejor el funcionamiento de los biosensores y de los potenciostatos en los apartados 2.1 y 2.3, respectivamente.

Además, a la hora de diseñar el sistema embebido, se deberá tener en cuenta que éste deberá ser poder ampliado en el futuro, para añadir las funcionalidades de los equipos automático y robotizado. También se tendrá en cuenta que en algunos experimentos será necesario determinar dos sustancias diferentes al mismo tiempo, por lo que será necesario el control de dos biosensores de manera simultánea.

El desarrollo de este trabajo se centrará en el control de un sólo biosensor, de manera que cuando quede validado el diseño inicial, se pueda añadir otro biosensor sin mayor complicación. Cabe destacar que el diseño de este sistema es complicado, pues las corrientes generadas por los biosensores son del orden de los nanoamperios, por lo que se debe tener especialmente cuidado en la selección de los componentes, en el rutado del PCB y en el emplazamiento de los componentes.

Para comprobar la validez del diseño, se construirá un prototipo que será probado tanto en entornos controlados como reales.

1.3. Organización de la memoria

La memoria describe el estado del arte, el desarrollo del HW, del FW, y del SW, así como las pruebas realizadas para validar el desarrollo realizado. Finalmente, se expondrán las conclusiones extraídas tras la realización de las pruebas, y se expondrán las posibles líneas de trabajo futuras.

En el capítulo 2 se expone el estado del arte, aprovechando el mismo para explicar el funcionamiento que deberá tener el sistema embebido, así como la teoría sobre la que se apoya el proyecto.

El capítulo 3 describe el proceso de desarrollo y construcción del sistema embebido, teniendo en cuenta sólo la parte HW. Se explicará cuál ha sido el planteamiento elegido para el prototipo, cómo se han seleccionado los componentes, y qué protocolos de comunicación se han elegido y por qué.

En el capítulo 4 se justifica el diseño del FW desarrollado para el control del HW. Se explicará la estructura del mismo, y se indicará cuál ha sido la implementación realizada de la comunicación tanto USB como I^2C , indicando cuáles son los comandos establecidos para el manejo del HW.

El capítulo 5 describe las modificaciones realizadas en el SW de Inbea Biosensores S.L. para adaptarlo al funcionamiento del nuevo HW desarrollado. También describe el funcionamiento básico del sistema, y las futuras mejoras que se realizarán para mejorar la conexión entre el SW y el HW.

En el capítulo 6 se describen las pruebas y resultados de las pruebas realizadas para validar el sistema. Este capítulo está dividido en pruebas individuales 6.1, y en pruebas de integración 6.2. Finalmente se sacarán algunas conclusiones acerca de los resultados obtenidos 6.3.

El capítulo 7 pone punto y final a la memoria, exponiendo las conclusiones extraídas a partir de los resultados obtenidos a lo largo del proyecto. También se ofrecen ideas para futuros desarrollos relacionados con el trabajo realizado.

Capítulo 2

Estado del arte

A continuación se expondrá el estado del arte, sentando las bases sobre las que se ha desarrollado el trabajo realizado.

2.1. Biosensores enzimáticos

Un sensor es un dispositivo que registra un cambio físico, químico o biológico y lo convierte en una señal medible [4]. Concretamente, los biosensores enzimáticos son biosensores electroquímicos, que combinan la sensibilidad de los métodos electroanalíticos con la inherente selectividad de los componentes biológicos, más concretamente con la selectividad de las enzimas.

El uso de las enzimas como elemento de reconocimiento biológico, viene justificado por su alta actividad catalítica y su alta especificidad; Es decir, solamente reaccionan en presencia del analito a estudiar, sin producir interferencias derivadas de la presencia de otros componentes en la disolución, produciendo especies electroactivas. Esta actividad catalítica se basa en los fenómenos redox (oxidación-reducción).

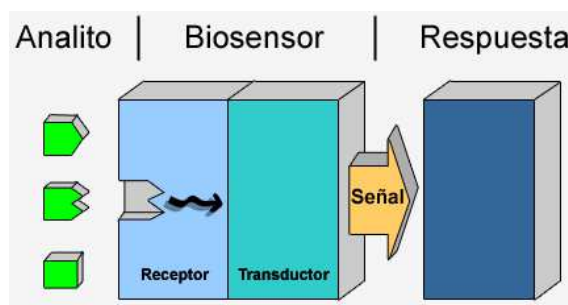


Figura 2.1: Funcionamiento de un biosensor.

Las respuesta bioquímica generada por la actividad de las enzimas es transformada por el transductor en una señal eléctrica medible, que correctamente tratada e

interpretada, nos puede indicar la concentración de analito en la muestra analizada.

Los biosensores que se han usado en este proyecto están formados por un núcleo de acero inoxidable, que es aislado de la disolución mediante una cubierta de material aislante con el fin de evitar interferencias. La única zona de contacto del sensor con la muestra está recubierta de oro, para aumentar la conductividad, y es en esa capa de oro en la que se depositan las enzimas específicas de la sustancia a detectar. Las corrientes generadas son del orden de los nanoamperios, oscilando normalmente entre unas pocas decenas y algunos cientos. El por qué este dato es importante se explicará en la sección 2.2.

Actualmente hay desarrollados biosensores enzimáticos para multitud de analitos, entre los que se pueden mencionar el alcohol [2], glucosa [5] o fructosa [6].

2.2. Técnica electroquímica

Como se indica en [4], la mayoría de los biosensores hacen uso de la detección electroquímica, debido principalmente a su bajo coste, facilidad de uso y simplicidad de construcción. Hay diferentes técnicas en función de la magnitud que se vaya a medir. Cuando se va a medir corriente, hablamos de voltametría o de amperometría; si se va a medir un potencial, hablamos de potenciometría, y si se analiza cómo varían las propiedades conductivas del medio, hablamos de conductometría.

Los biosensores con los que se trabajará en este proyecto son amperométricos, por lo que la magnitud a medir será la corriente generada. De aquí se puede ver la importancia del dato aportado en el apartado anterior, en el que se indicaba que las corrientes son del orden de los nanoamperios, ya que ese dato será determinante a la hora de diseñar el sistema.

2.2.1. Amperometría

Esta técnica consiste en aplicar un potencial constante entre dos electrodos, el de trabajo (que es el biosensor), y el de referencia, y medir la corriente resultante del proceso de electrólisis (oxidación o reducción en el electrodo de trabajo). La corriente generada será proporcional a la concentración del analito estudiado en la muestra.

La forma típica de medir en esta técnica consiste en realizar un calibrado al inicio de la jornada, y posteriormente añadir muestras que se interpolarán en la curva de calibrado obtenida, hallando así la concentración de analito presente en la muestra. Para el calibrado lo típico es fijar la diferencia de potencial entre los electrodos, y esperar a que la corriente obtenida se estabilice, estando los electrodos en contacto con una disolución llamada buffer. Una vez estabilizado (línea base), se añade una cantidad conocida de patrón (material con un contenido conocido de la sustancia a analizar), y se espera a que vuelva a estabilizar. Este último paso se repite diferentes

veces, dependiendo del tipo de curva de calibrado que se necesite (lineal, cuadrática, cúbica...). La magnitud de los saltos de corriente es lo que se usa para efectuar el calibrado.

Para obtener la concentración presente en cada muestra, se cambia la disolución buffer, se vuelve a esperar a alcanzar la línea base, y se adiciona una cantidad conocida de la muestra. Una vez estabilizada la corriente tras la última adición, se mide la diferencia de corriente con respecto a la línea base, y se interpola el resultado en el calibrado anteriormente obtenido, averiguando así la concentración de analito en muestra.

Esta será la técnica con la que se desarrollará el proyecto.

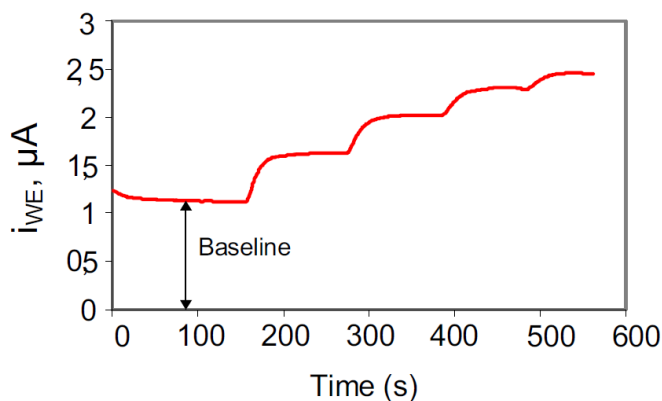


Figura 2.2: Curva típica en un experimento de amperometría.

2.2.2. Voltametría

La voltametría se diferencia de la amperometría en que en vez mantener una diferencia de potencial constante entre los electrodos, se realiza un barrido de potencial (potencial de escaneo), siguiendo diferentes patrones de barrido, uno de ellos se puede ver en la figura 2.2.2. La respuesta del sensor es un pico o meseta de corriente proporcional a la concentración de analito, como se puede ver en la figura 2.2.2.

Por ahora no nos preocuparemos demasiado de esta técnica, pero podría ser interesante en un futuro, por lo que será recomendable tenerlo en cuenta a la hora del diseño.

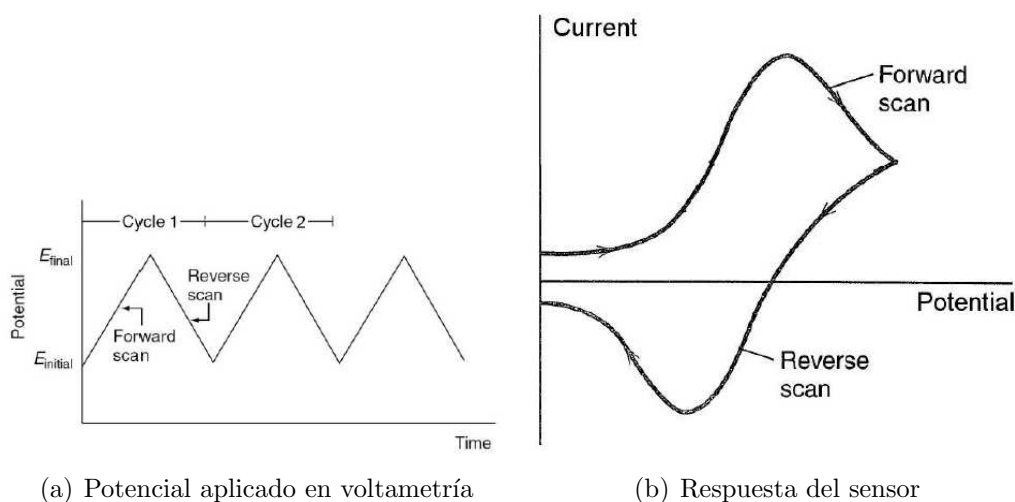


Figura 2.3: Curvas típicas en un experimento de voltametría.

Como se ha indicado, ambas técnicas requieren el uso de dos electrodos de trabajo, aunque será necesario añadir un electrodo más como se explicará en el apartado 2.2.3, en el que se explicará esta configuración, denominada célula electroquímica.

2.2.3. Célula electroquímica

Una célula electroquímica, o celda electroquímica, es un dispositivo capaz de producir reacciones químicas a través de la introducción de energía eléctrica [7]. De este modo, para llevar a cabo los experimentos, se necesitan como mínimo dos electrodos, de manera que haya un ánodo y un cátodo, lo que permitirá que se pueda producir la reacción redox.

Estos electrodos son el de trabajo (o indicador), del que ya se ha hablado anteriormente, que se corresponde con el biosensor, y es en el que se produce la reacción. Y el de referencia, con unas propiedades químicas características que lo hacen imprescindible en este tipo de experimentos. En nuestro caso, se usarán electrodos de referencia de $Ag/AgCl$.

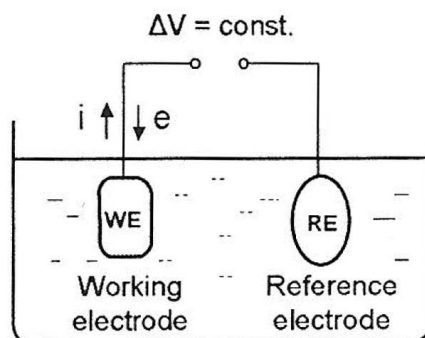


Figura 2.4: Diagrama de una celda electroquímica de dos electrodos.

Pero esta configuración de dos electrodos tiene un problema [8] [4] [9]. Y es que cuando la reacción tiene lugar, la corriente generada al producirse la reacción circula por el electrodo de referencia, polarizándolo. Esto quiere decir que el potencial fijado variará. Para que esto no suceda, se debería usar un electrodo de referencia no polarizable (es decir, cuya impedancia sea cero), pero dado que no existen, lo que se hace es añadir un nuevo electrodo a la célula. Este nuevo electrodo se conoce como contra electrodo, o electrodo auxiliar.

El electrodo auxiliar suele ser un hilo de un material inerte, como el oro o el platino, con el objetivo de que no reaccione al entrar en contacto con la disolución. Este electrodo se utiliza para que la corriente circule a través de él, en lugar de hacerlo a través del electrodo de referencia, manteniendo así constante la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y de referencia.

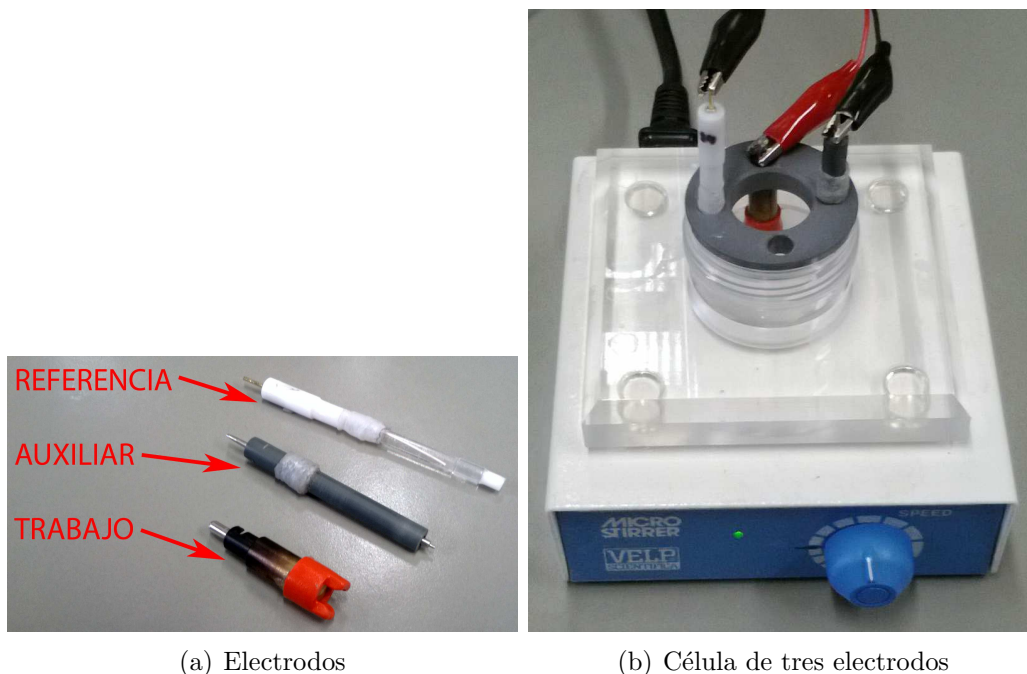


Figura 2.5: Detalle de la célula de tres electrodos usada y de los electrodos usados.

2.3. Potenciostato

Como ha quedado patente en apartados anteriores, un potenciostato es el dispositivo electrónico necesario para controlar una célula electroquímica. Sus dos funciones principales son [9] [10] [11]:

- Controlar la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y de referencia, sin polarizar el electrodo de referencia.
- Medir la intensidad de corriente que circula entre los electrodos de trabajo y auxiliar.

Para el primer propósito, el del control del potencial, todos los autores coinciden en el uso de un amplificador operacional [8] [11] [10] [9] [12] [13] [14] [15], habiendo diferentes configuraciones, como ya se explicará en el apartado 3.3.4.

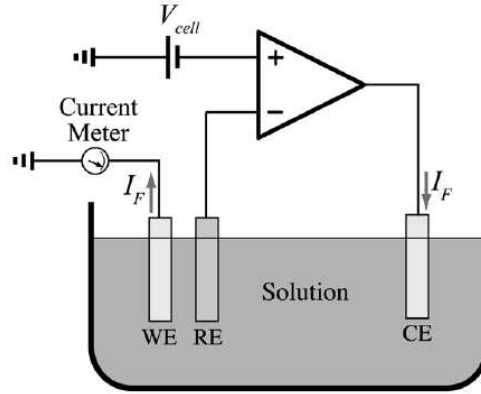


Figura 2.6: Diagrama de una célula de tres electrodos con un potenciostato.

Para el segundo propósito, la medición de la corriente, hay dos topologías claramente diferenciadas, la medición por medio de un convertor I/V [8] [10] [9] [13] [14] (apartado 2.3.1), y la medición utilizando un espejo de corriente [11] (apartado 2.3.2).

2.3.1. Potenciostato con convertor I/V

Esta topología se basa en el uso de un conocido circuito con operacionales, el convertor I/V, o amplificador de transimpedancia. Esta configuración consiste simplemente en un amplificador operacional con una resistencia en la realimentación, de modo que la salida del operacional es una tensión proporcional a la corriente de entrada. La ganancia viene dada por la resistencia de la realimentación, por lo que variando la misma, podemos aumentar el rango dinámico del sistema. Se darán más detalles en el apartado 3.3.3.

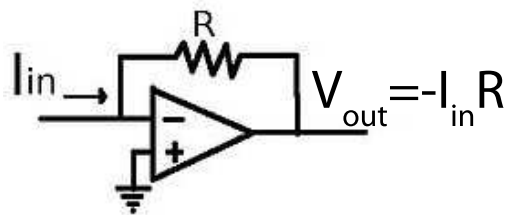


Figura 2.7: Amplificador de transimpedancia.

2.3.2. Potenciostato con espejo de corriente

Esta técnica, desarrollada en [11], consiste en realizar las mediciones en una copia de la corriente, en lugar de hacerlo directamente. Esto aporta algunas ventajas al potenciostato, como conectar el electrodo de trabajo directamente a tierra, menor consumo, o menor número de componentes ruidosos. Sin embargo, presenta el inconveniente de ser un diseño más complejo y delicado, pues se requiere que los transistores sean exactamente iguales.

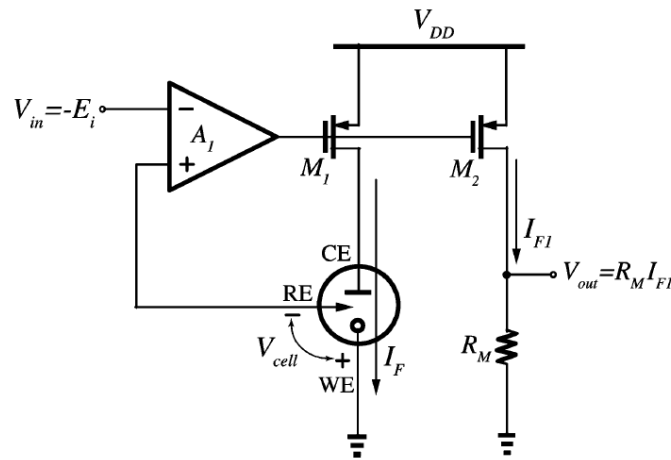


Figura 2.8: Espejo de corriente aplicado a un potenciostato.

2.4. Sistemas FIA

Los sistemas FIA (Flow Injection Analysis) [16] [17], son sistemas en los que el biosensor está en contacto continuo con una disolución llamada portadora, en la que periódicamente se inyecta una cantidad controlada de muestra. Al llegar esta muestra al biosensor, se produce un pico de corriente que es proporcional a la concentración de analito en la muestra. Estos sistemas son muy útiles para monitorizar continuamente una muestra, pues reducen la necesidad de intervención humana, además de ahorrar tiempo, pues no es necesario cambiar la muestra ya que al haber un flujo portador, cada inyección de la muestra se hace sobre la línea base, impidiendo que el biosensor se sature.

Estos sistemas son los que antes hemos llamado “automáticos” en la sección 1.2, y para su implementación será necesario el control de varias válvulas y bombas, encargadas de controlar el flujo.

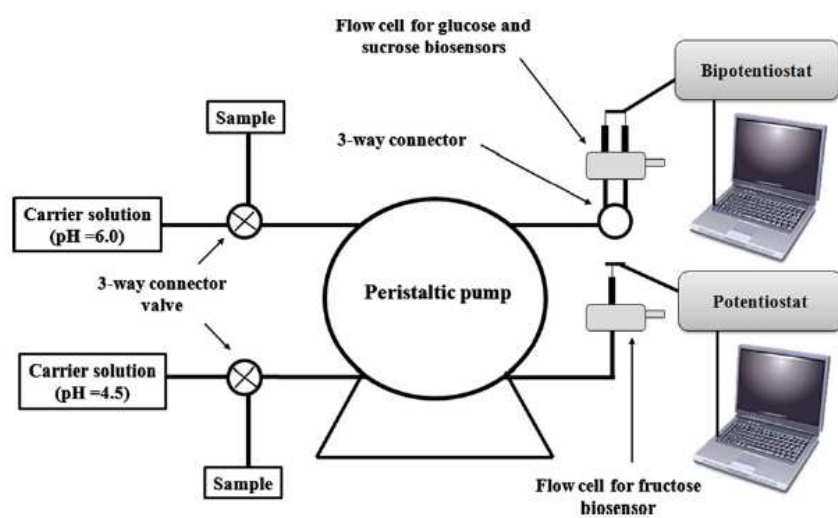


Figura 2.9: Ejemplo de sistema FIA.

Capítulo 3

Desarrollo del hardware

En este capítulo se detalla el diseño del hardware desarrollado, explicando los componentes seleccionados, el funcionamiento del sistema y el diseño del PCB (*Printed Circuit Board*).

3.1. Planteamiento

Para el desarrollo del potencióstato, se ha optado por una solución basada en un microcontrolador, ya que facilita enormemente la comunicación con el PC. Esta comunicación es necesaria, ya que el objetivo es mostrar la señal capturada en una gráfica a través de un software que se explicará en la sección 5. Para esta comunicación se ha optado por el protocolo USB (*Universal Serial Bus*), por ser el más extendido hoy en día (apartado 3.4.2).

Dado que el diseño a desarrollar en este trabajo es sólo un prototipo, se optó por dividir el sistema en cuatro placas separadas e interconectadas entre sí. Cada una de estas placas tiene una función claramente diferenciada. A saber, fuente de alimentación, microcontrolador y comunicación con el PC, medición de corriente, y control de potencial. De este modo, un incorrecto funcionamiento de una de las funcionalidades del hardware podía ser resuelto diseñando una nueva placa, pero sin tener que volver a fabricar el potencióstato por completo.

Como se ha advertido anteriormente en varios apartados, las corrientes a medir son del orden de los nanoamperios, por lo que se ha tenido que prestar especial atención a las técnicas de reducción de ruido, como se explicará en el siguiente apartado.

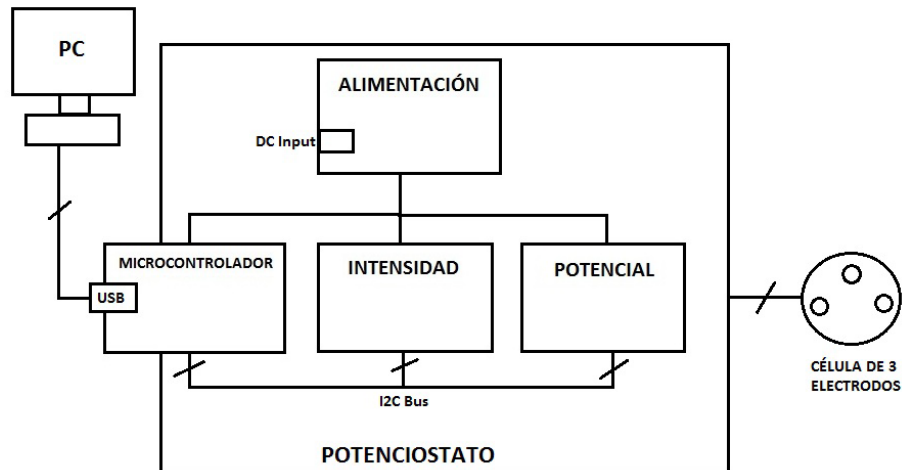


Figura 3.1: Diagrama de la división del diseño en placas interconectadas.

3.2. Técnicas de reducción de ruido

En el EIT II, correspondiente al segundo cuatrimestre docente del máster, se desarrolló un estudio con el objetivo de estudiar las técnicas de reducción de ruido a la hora de diseñar un PCB. Estas técnicas han sido aplicadas durante el desarrollo de este trabajo, y son las siguientes [18] [19] [20] [21] [22] [23]:

- Separación de los componentes en tres regiones, componentes digitales, componentes analógicos, y componentes ruidosos (relés, conmutadores de gran corriente, etc.).
- Prestar atención al rutado de las señales de reloj.
- Reducir la inductancia de los caminos de vuelta de tierra. Para ello se deben crear tantos caminos paralelos como sea posible. Llevado al límite supone la creación de un plano de tierra.
- Trazar pistas cortas y anchas, con giros de 45 grados en lugar de 90. Con ello se reduce la inductancia y se decrementan las reflexiones.
- Trazar las pistas que suministran potencia al circuito en paralelo a las pistas de tierra.
- Colocar condensadores de desacoplo lo más cercano posible a cada circuito integrado.
- Colocar un condensador de entre $10\mu F$ y $100\mu F$ cerca de la entrada de corriente del PCB.
- Usar filtros LC o Pi en caso de ser necesario un mayor filtrado de las líneas de potencia. También es posible usar filtros de ferrita.

- No mezclar las señales digitales con las analógicas.
- Prestar atención a las líneas de reloj y reset, intentando que su recorrido sea el menor posible.
- Colocar el reloj cerca del microcontrolador, soldando la carcasa a tierra.
- Si se cruzan señales analógicas y digitales, hacer que lo hagan en ángulo de 90 grados.
- Obtener las tensiones de referencia directamente de los integrados que las proporcionen, sin compartir pista con otros componentes.
- Si tenemos operacionales de más, conectar la entrada positiva a tierra y la negativa a la salida.
- Si una pista es crítica, hacer que su trazado sea ancho, situando una pista conectada a tierra a cada lado de la misma, haciendo de banda de guarda.
- Reducir las patas de los condensadores de desacoplo lo máximo posible.
- Conectar todas las entradas de tierra y de potencia de los integrados.
- No usar zócalos, en especial para el reloj.
- No trazar pistas que pasen por debajo del reloj, ni siquiera en capas adyacentes.
- Localizar los drivers de I/O lo más cerca posible del conector correspondiente, y usar conectores que ofrezcan un camino a tierra.
- Para conectores entre placas, dejar más de un pin para tierra, para evitar el *cross-talk*.
- Usar cables apantallados. Se pueden apantallar con cinta adhesiva (Cu/Al) con adhesivo conductor.
- Introducir el diseño en una carcasa aislante.

Como se ya se ha dicho, las técnicas mencionadas han sido aplicadas en el diseño de las cuatro placas, intentando llevarlas a la realidad siempre que ha sido posible, ya que en algunos casos ha sido imposible llevar a cabo alguna de ellas por imposiciones de diseño. Por ejemplo, al diseñar el potencióstato como cuatro placas separadas, ha sido inevitable el uso de conectores.

Mencionar que para el diseño de los esquemáticos y de los PCB, se ha utilizado la herramienta *Altium Designer*.

3.3. Placas desarrolladas

Como se ha comentado en el apartado 3.1, el diseño del potenciómetro se ha dividido en cuatro placas separadas, interconectadas entre sí, para facilitar el rediseño de alguna de las partes en caso de ser necesario. A continuación se describen las cuatro placas.

Mencionar que para el prototipo desarrollado no se han establecido restricciones de consumo ni de espacio.

3.3.1. Fuente de alimentación

Esta placa es la encargada de alimentar todos los componentes del circuito desarrollado. Por motivos que se darán a conocer en las explicaciones de las siguientes placas, las tensiones que debe proporcionar la fuente son: 2V, 4V y 5V, de corriente continua.

Como se ha comentado en los objetivos (sección 1.2), el sistema desarrollado se ampliará para la consecución de un sistema automatizado y un sistema robotizado. Para ello será necesario manejar bombas, válvulas, motores, etc., que funcionarán a una tensión más elevada. Esta tensión suele ser de entre 24 y 12V de corriente continua. De este modo, se ha diseñado la placa pensando en ello, por lo que la entrada de corriente de la misma puede ser cualquier valor de corriente continua entre 7 y 28V.

3.3.1.1. Selección de componentes

Los componentes seleccionados para esta placa son los siguientes:

- **Convertidor DC/DC conmutado TPS54331 de Texas Instruments:** Este componente es el encargado de convertir la tensión de entrada en 5V, para alimentar algunos de los otros integrados. Aunque como se ha mencionado no hay restricciones de consumo, se ha optado por un convertidor conmutado porque si optamos por alimentar el diseño con una fuente de 24V, la energía disipada por un convertidor lineal, como puede ser el L7805, haría obligatorio el uso de un disipador, cosa que no pasa usando un convertidor conmutado.
- **Tensión de referencia REF2940 de Texas Instruments:** Es el componente que transforma la salida de 5V del integrado anterior en una tensión de referencia de 4,096V.
- **Tensión de referencia REF5020:** Para convertir la tensión de 4V del integrado anterior en una tensión de referencia de 2,048V. Se ha elegido este

integrado por ser de gran precisión, bajo ruido, y recomendado por el fabricante para instrumentación de precisión y sistemas de adquisición.

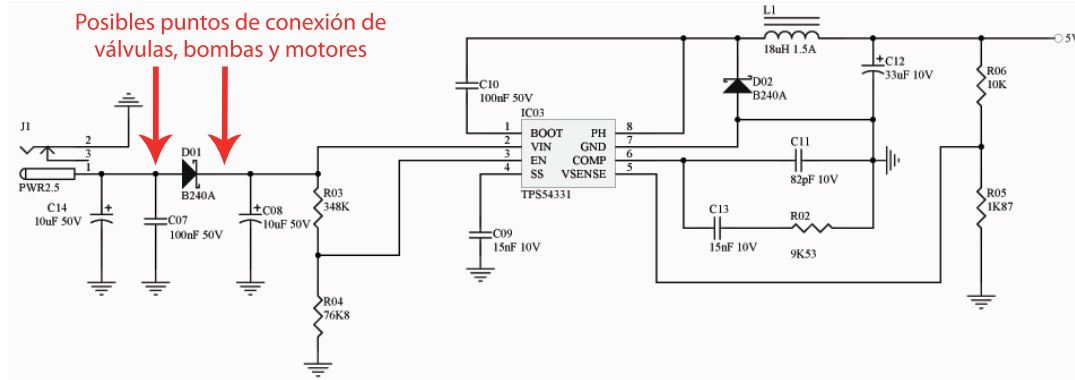


Figura 3.2: Detalle de las conexiones del integrado TPS54331, indicando dónde se podrían conectar las válvulas, bombas y motores en una futura aplicación del diseño.

3.3.1.2. Diseño del PCB

Para el diseño del PCB, dado que todos los componentes son analógicos, no ha hecho falta hacer ninguna separación de los mismos, de manera que se han colocado uno a continuación de otro, intentando minimizar el espacio ocupado por los mismos.

La mayor dedicación que ha requerido el diseño de este PCB, ha sido seguir las pautas de diseño indicadas por el fabricante, especialmente para el integrado TPS54331, que al tratarse de un convertor conmutado, ha requerido especial atención para evitar que el ruido se filtrase a otros componentes. Para ello ha sido muy útil la hoja de datos del componente, y la aplicación para diseñar fuentes conmutadas disponible en la web de Texas Instruments.

A la entrada de la alimentación, se ha optado por introducir un diodo Schottky como protección contra inversiones de polaridad. La elección de un diodo de tipo Schottky viene justificada por su menor caída de potencial en directa, y por su mayor velocidad de conmutación, comparándolo con un diodo tradicional.

Finalmente, mencionar que la capa inferior del PCB conforma casi en su totalidad un plano de tierra, con el fin de evitar que cualquier posible ruido se filtre a otras placas o integrados. Por eso mismo, en los conectores que distribuyen la alimentación a otras placas, se ha emplazado una conexión a tierra para cada tensión, con el objetivo de que por cada cable de alimentación que vaya de una placa a otra, haya un cable de tierra adyacente.

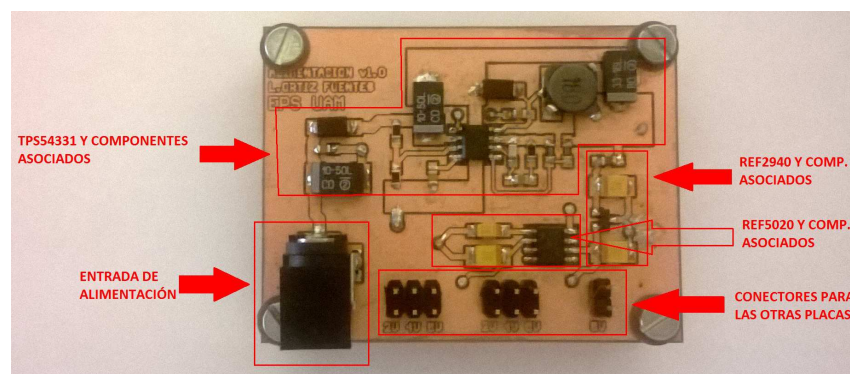


Figura 3.3: Placa de alimentación fabricada con identificadores de los componentes.

3.3.2. Microcontrolador

Esta placa constituye el cerebro del potencióstato. Su único integrado es un microcontrolador ATmega32U4 de Atmel, encargado de llevar a cabo las mediciones, controlando para ello algunos integrados del sistema, y realizando algunos cálculos. También es el encargado de gestionar la comunicación con el PC.

3.3.2.1. Selección de componentes

Desde el principio se pensó en utilizar un microcontrolador del fabricante Atmel, y más concretamente, un dispositivo de la familia AVR, por los siguientes motivos:

- Poseen una arquitectura más moderna que la de otros fabricantes.
- Hay un gran soporte para estos dispositivos, debido a su enorme popularidad.
- El fabricante suministra potentes herramientas para su programación, como son *Atmel Studio 6* o *FLIP*.

La familia AVR se divide en dos ramas, la de microcontroladores de 8 bits, y la de 32 bits. Para este proyecto se decidió usar un microcontrolador de 8 bits, pues estos son más económicos, sencillos de programar, y cumplen con creces con las necesidades del sistema, incluso si en un futuro se quisiera añadir funcionalidad web al sistema para poderlo controlar remotamente, para lo que sólo sería necesario añadir un integrado ENC28J60 de Microchip, que implementa un controlador ethernet, y conectarlo al microcontrolador mediante una interfaz SPI (*Serial Peripheral Interface*).

Otras características deseables a la hora de buscar el integrado adecuado fueron:

- Disponibilidad de conectividad USB directa para la comunicación con el PC.

- Disponibilidad de interfaz I^2C para la interconexión con otros integrados, ya que este bus de comunicaciones permite el direccionamiento por medio de direcciones, siendo una clara ventaja frente a SPI, que requiere más líneas, teniendo que tener una línea dedicada a cada uno de los esclavos para implementar la función del *Chip Select*.
- Disponibilidad de un segundo puerto SPI para futuras ampliaciones. Como ya se ha comentado, la idea es controlar en un futuro una serie de motores para el equipo robotizado, por lo que se ha pensado que esa funcionalidad podría ir implementada en un microcontrolador aparte, comunicando ambos por medio de un bus SPI.

Tras la búsqueda, como ya se ha comentado antes, el microcontrolador elegido fue el ATmega32U4, con las siguientes características reseñables:

- Memoria flash programable de 32KB.
- Memoria SRAM de 2,5KB.
- Memoria ROM interna de 1KB.
- Comunicación directa mediante USB (*Universal Serial Bus*).
- 4 timers.
- 2 interfaces SPI (*Serial Peripheral Interface*).
- Interfaz TWI (*Two Wires Interface*). Similar al I^2C , pero con otro nombre por temas de derechos.
- 26 pines GPIO (*General Purpose Input Output*).
- Programación mediante ISP (*In-System Programming*), con bootloader precargado para programar el microcontrolador a través del puerto USB.

Como se puede ver, el microcontrolador elegido tiene todas las características deseadas, además de algunas otras bastante útiles.

3.3.2.2. Diseño del PCB

En este caso, el único componente activo de la placa es el microcontrolador, por lo que la elección de su emplazamiento no tiene mayor misterio, siendo el único requisito indispensable, seguir las indicaciones del fabricante [24], especialmente en lo referente al reloj, pues al ser un componente de alta frecuencia merece especial atención para evitar que propague ruido a otras partes del circuito.

Adicionalmente, se han añadido dos pulsadores para el control de las líneas de RE-SET y HWB del microcontrolador, necesarias para la programación a través del bootloader precargado.

Finalmente, destacar que de nuevo la capa inferior conforma casi en su totalidad un plano de masa.

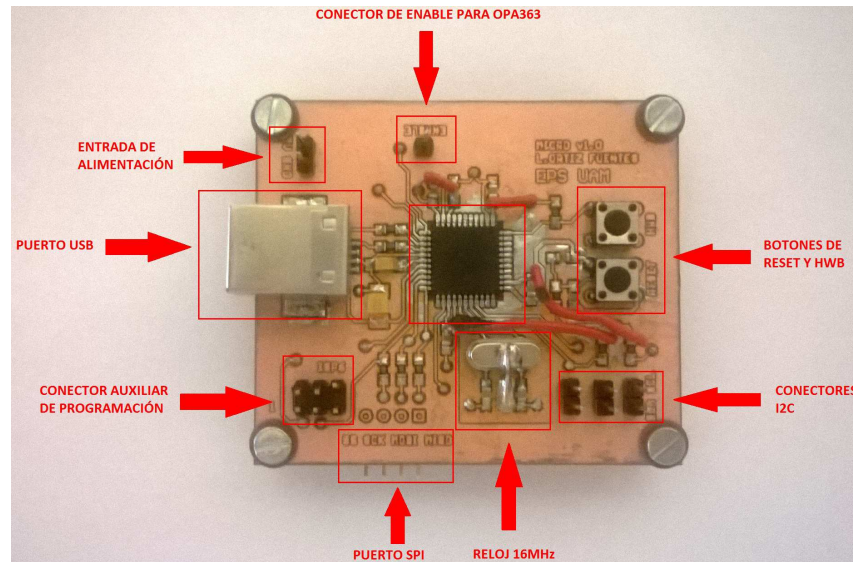


Figura 3.4: Placa del microcontrolador fabricada con identificadores de los componentes.

3.3.3. Medición de corriente

Esta placa ha sido una de las que más dedicación ha requerido. Su cometido es transformar la corriente que circula entre los electrodos auxiliar y de trabajo en un valor de tensión, de manera que el microcontrolador pueda interpretar dicho valor para obtener el valor de la corriente.

Como se comentó en la sección 2.3, hay dos topologías claramente definidas para realizar esta tarea. La primera consiste en utilizar un convertor I/V, y la segunda, un espejo de corriente, y posteriormente realizar las mediciones sobre la copia. Dado que para realizar las mediciones sobre la copia sería necesario de nuevo un convertor I/V, además de ser necesarios más componentes, se optó por implementar directamente un convertor I/V y medir directamente sobre la corriente. También ayudó a tomar esta decisión el hecho de que la mayor parte de la literatura [8] [9] [14] [13] [12], hacía uso de esta técnica, asegurando obtener excelentes resultados.

La ganancia de un amplificador de transimpedancia, viene dada por el valor de la resistencia situada en su realimentación. Para poder medir diferentes rangos de corriente con precisión, es necesario modificar el valor de dicha resistencia. Para ello se pensó en un potenciómetro digital, puesto que permite ajustar el valor de la

resistencia de manera más precisa que situando diferentes resistencias de valor fijo, conectadas a un multiplexor.

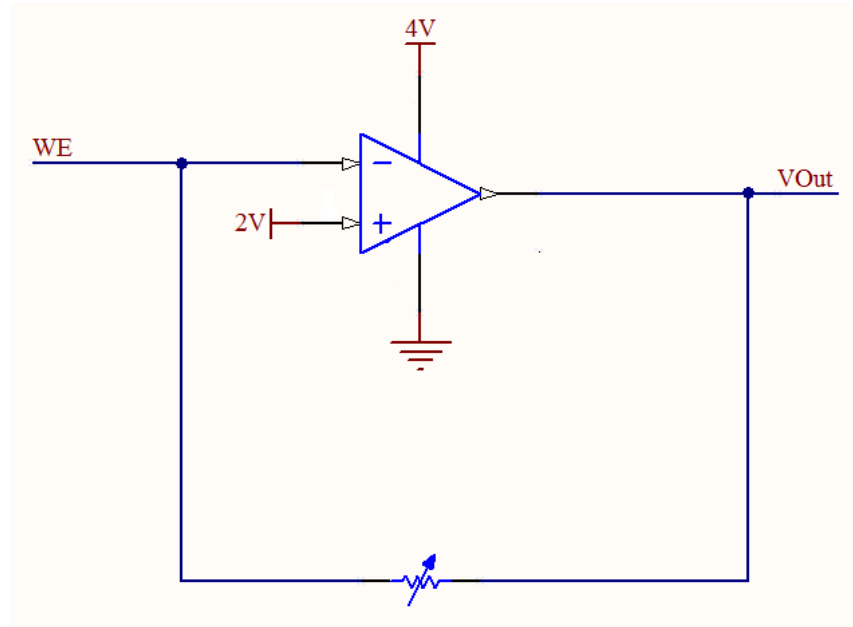


Figura 3.5: Amplificador de transimpedancia con ganancia variable.

El convertor I/V tiene además otra función. Y es que, dado que está conectado directamente al electrodo de trabajo, es el encargado de fijar el potencial del mismo. Esto es posible gracias a las propiedades de los amplificadores operacionales, que mantienen el potencial de ambas entradas casi idéntico.

En un principio se pensó en conectar este electrodo a 0V, pero la necesidad de medir corrientes en ambos sentidos, hizo necesario desplazar el valor central, y situarlo en 2V, de manera que valores a la salida del convertor por debajo o por encima de dicho valor significarían corrientes en un sentido u otro. Esta decisión también vino motivada por la necesidad, como se explicará en 3.3.4, de admitir diferencias de potencial negativas y positivas entre los electrodos de trabajo y de referencia.

3.3.3.1. Selección de componentes

A continuación se explica cuáles fueron los componentes seleccionados para esta placa, y por qué.

Amplificador operacional Este es uno de los componentes más críticos del sistema. Para poder medir las pequeñas corrientes del biosensor, fue necesario buscar un amplificador operacional con las siguientes características [9]:

- Baja corriente de bias a la entrada (es la corriente media que circula por las entradas en ausencia de señal, consecuencia de la no idealidad de los operacionales).
- Gran CMRR (*Common Mode Rejection Ratio*).
- Gran impedancia de entrada.

Tras una búsqueda, centrada principalmente en la primera característica, por ser la más diferenciadora, se encontró el integrado LMP7721 de Texas Instruments, cuyas características principales son:

- Corriente bias de entrada máxima de 20 femtoamperios a 25 grados centígrados.
- CMRR de 100 dB
- Impedancia de entrada extremadamente alta (no se indica el valor).
- Recomendado por el fabricante para el diseño de amplificadores de transimpedancia.

Dado que fue el único integrado que se encontró con una corriente bias de entrada tan baja, fue claramente el elegido para el diseño.

Este operacional será alimentado entre 0V y 4V, suministrando a la entrada positiva un potencial de 2V. Así, se podrán medir corrientes tanto positivas como negativas, quedando la función de transferencia como sigue:

$$V_{Out} = -I * R + 2$$

Potenciómetro digital Para la búsqueda de este componente se pensó en encontrar un potenciómetro con una resistencia máxima de $10M\Omega$, pero tras diversas búsquedas, el potenciómetro digital más grande que se encontró contaba con una resistencia máxima de $1M\Omega$. Otro requisito de búsqueda era que tuviese interfaz I^2C para poderlo controlar desde el microcontrolador.

Finalmente, se optó por la única alternativa encontrada, el integrado AD5241 de Analog Devices. Un potenciómetro digital con interfaz I^2C , resistencia máxima de $1M\Omega$, y 256 posiciones.

Este integrado ofrece una resistencia fija de $1M\Omega$ entre dos de sus terminales (el A y el B), pero que cuenta con un tercer terminal (el W), haciendo que la resistencia entre el terminal B y el W varíe en función del valor recibido a través del puerto I^2C . De este modo, la resistencia entre los terminales indicados, para un código dado, viene definida por la siguiente fórmula:

$$R_{WB}(D) = \frac{D}{256}xR_{AB} + R_W$$

Siendo:

R_{WB} - Resistencia entre los terminales W y B.

D - Código decimal recibido a través del puerto I^2C (entre 0 y 255).

R_{AB} - Resistencia máxima entregada por el dispositivo, $1M\Omega$.

R_W - Resistencia residual, según la hoja de datos, 60Ω .

Realizando los cálculos pertinentes, teniendo en cuenta la función de transferencia del convertor I/V, obtenemos los siguientes resultados para las corrientes máximas que se pueden medir con el diseño realizado:

Código (D)	R_{WB}	I si $V_{Out} = 0V$	I si $V_{Out} = 4V$
0	60Ω	$-33mA$	$33mA$
255	$0,997M\Omega$	$-2\mu A$	$2\mu A$

Cuadro 3.1: Tabla con los valores de intensidad máximos medibles para las tensiones de saturación del operacional (0V y 4V).

Como se puede advertir en la tabla, sería posible medir corrientes de hasta $\pm 33mA$, pero por limitaciones de los integrados que componen el circuito, sólo será posible medir corrientes de hasta $20mA$, siendo más que suficiente.

Convertor ADC (*Analog to Digital Converter*) Este convertor, encargado de traducir la tensión de salida en un dato entendible por el microcontrolador, se buscó atendiendo a las siguientes características:

- Operación diferencial, para poder restar los 2V anteriormente sumados en la etapa de conversión I/V, ya que al hacerlo por hardware será más preciso que si lo realizamos a través de software.
- Resolución de 16 bits o mayor.
- Interfaz I^2C .

Finalmente se eligió el integrado ADS1114 de Texas Instruments, con las siguientes características:

- Capacidad para operar diferencialmente.
- Referencia interna.
- Hasta 860 muestras por segundo (programable).

- Interfaz I^2C .

Teniendo en cuenta que la resolución es de 16 bits, el potenciómetro diseñado tiene una resolución de hasta $61pA$. Esta resolución es variable, pues depende del valor de resistencia fijado en el potenciómetro, pero siempre se mantiene en valores razonables.

3.3.3.2. Diseño del PCB

Para el diseño del PCB se ha tenido en cuenta que el conversor ADC es tanto analógico como digital, situándolo a uno de los lados de la placa. También se han tenido en cuenta las consideraciones de los fabricantes en cuanto a diseño del PCB.

Dadas estas consideraciones, se ha situado un condensador en la realimentación del operacional, en paralelo a la resistencia, ya que de lo contrario el fabricante indica que el sistema podría ser inestable.

La línea que conecta el electrodo de trabajo con el operacional, y por lo tanto, por la que circula la corriente a medir, se ha diseñado de manera que esté conectada directamente, o a través de una resistencia. Esto se hizo así porque en algunas referencias [8], se indica que algunos fabricantes recomiendan el uso de esta resistencia. El inconveniente, es que entonces el potencial se debe medir de manera diferente, pues en la resistencia caerá potencial. Con el objetivo de ver cómo afecta la resistencia a las medidas, sólo se incluyó la resistencia, dejando el sistema de medida de potencial sin modificar, ya que el diseño se complicaba bastante.

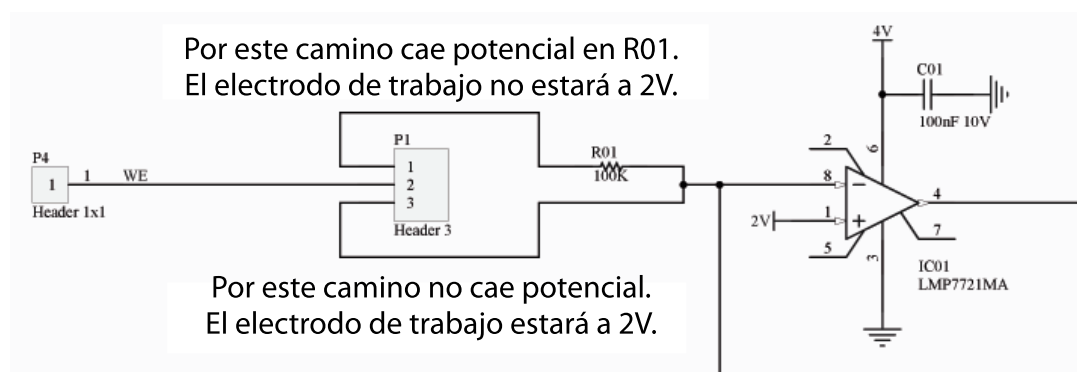


Figura 3.6: Detalle del problema de caída de potencial en la conexión del electrodo de trabajo.

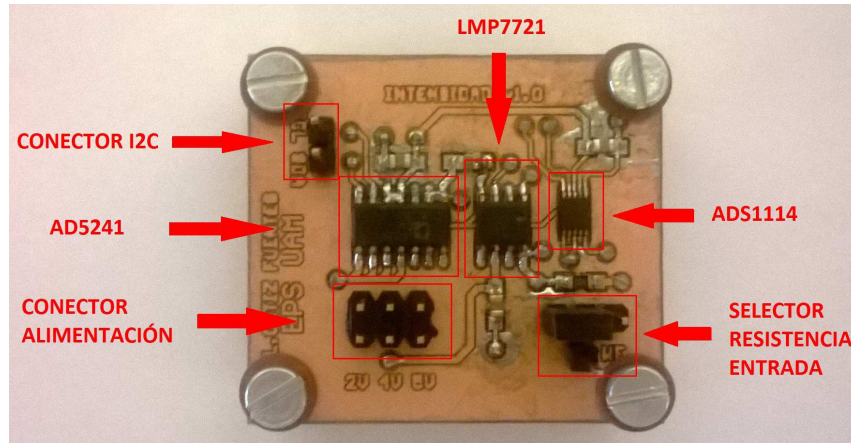


Figura 3.7: Placa de medición de intensidad fabricada con identificadores de los componentes.

De nuevo, la capa inferior conforma casi en su totalidad un plano de tierra.

3.3.4. Control de potencial

La función de esta placa es controlar que la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y de referencia permanezca constante, sin polarizar el electrodo de referencia, es decir, impidiendo que por dicho electrodo circule corriente. Para ello se ha asumido que el electrodo de trabajo permanece a un potencial constante de 2V, por el motivo anteriormente explicado en 3.3.3. De este modo, tenemos que:

$$E_{WR} = E_W - E_R$$

Siendo:

E_{WR} - Diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y de referencia

E_W - Potencial del electrodo de trabajo

E_R - Potencial del electrodo de referencia

De este modo, si hay una tensión superior a 2V en el electrodo de referencia, la diferencia de potencial se considerará negativa, y si el valor es inferior a 2V, se considerará positiva.

Dado que el controlador es en si mismo un lazo, ha sido necesario aplicar teoría de control, pero no teníamos el modelo exacto de la planta. En la literatura todos los autores daban modelos parecidos [8] [9] [11] [15] [12], formados por redes de resistencias y condensadores, pero en pocos de ellos llegaban a dar valores. Finalmente se optó por elegir uno, que según los autores [8], constituía uno de los modelos más exigentes para el controlador.

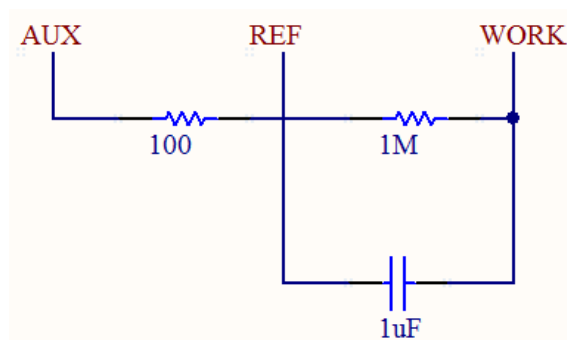


Figura 3.8: Modelo de célula usado durante el desarrollo.

Realizando las operaciones oportunas, se llegó al siguiente modelo de controlador, en el que el condensador de la realimentación sirve para reducir la sobreoscilación del sistema:

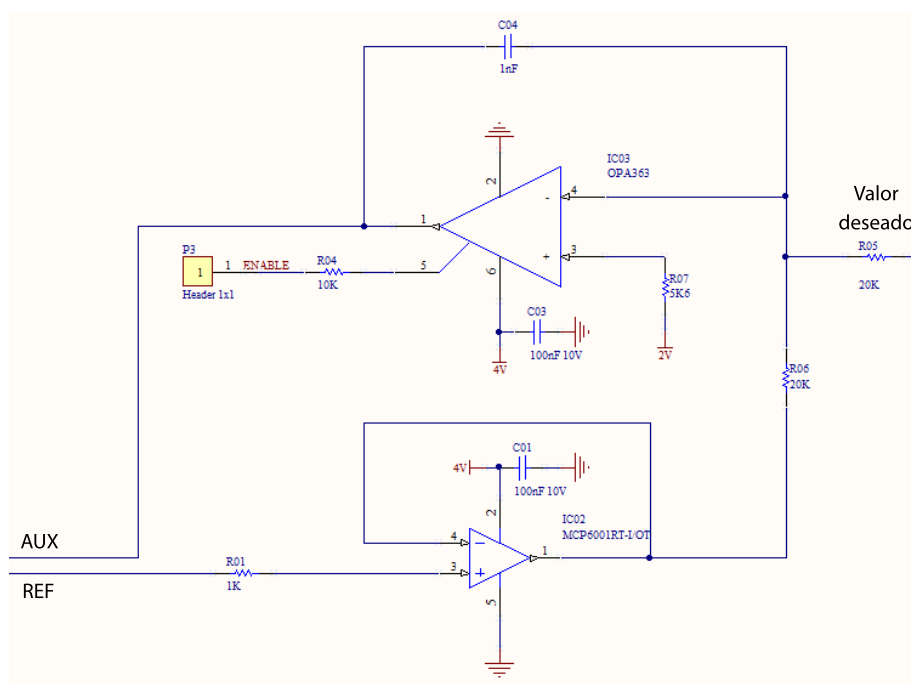


Figura 3.9: Controlador obtenido para fijar el potencial de la célula.

El seguidor de tensión conectado al electrodo de referencia tiene su justificación en que de este modo, aseguramos que el electrodo no se polariza, ya que por las propiedades de los amplificadores operacionales, la corriente a la entrada de los mismos es nula, o al menos, despreciable.

3.3.4.1. Selección de componentes

A continuación se explica cuáles fueron los componentes seleccionados para esta placa, y por qué.

Amplificador operacional para el seguidor de tensión Para la búsqueda de este componente se establecieron los siguientes criterios de búsqueda:

- Rail to rail.
- Corriente bias de entrada baja (aunque no tanto como para la medición de corriente, para ahorrar dinero).
- Gran impedancia de entrada.

Finalmente, de entre los candidatos, se eligió el integrado MCP6001 de Microchip, con las siguientes características:

- Funcionamiento rail to rail en entrada y salida.
- Corriente bias de entrada de $\pm 1pA$ a 25 grados centígrados.
- Impedancia de entrada de $10^{13}\Omega$.

Amplificador operacional para el controlador Para la búsqueda de este operacional se establecieron los siguientes parámetros:

- Posibilidad de desconectar la salida, de modo que el controlador no funcione cuando no se esté midiendo.
- Gran ganancia.
- Gran CMRR (*Common Mode Rejection Ratio*).
- Rail to rail.

Finalmente, se optó por utilizar el integrado OPA363 de Texas Instruments, con las siguientes características:

- Modo shutdown controlado mediante señal externa.
- Ganancia de 100dB en lazo abierto.
- CMRR de 90dB.
- Funcionamiento rail to rail.

Conversor DAC (*Digital to Analog Converter*) Finalmente, se buscó el conversor DAC, utilizado para indicar al controlador el potencial deseado en el electrodo de referencia. El integrado elegido fue el DAC8571 de Texas Instruments, con las siguientes características reseñables:

- Resolución de 16 bits.
- Interfaz I^2C .
- Referencia externa.
- Error de offset de 1mV.

Dado que la tensión de salida del conversor es el potencial al que se quiere que esté el electrodo de referencia, será necesario sumar en el microcontrolador los 2V del electrodo de trabajo.

3.3.4.2. Diseño del PCB

Al igual que en la placa de medición de corriente, todos los componentes son analógicos excepto uno, que es tanto analógico como digital. Este último componente se ha situado en un lado de la placa. Al igual que en las anteriores placas, se han seguido las recomendaciones de los fabricantes, y las técnicas de reducción de ruido estudiadas, en la medida de lo posible.

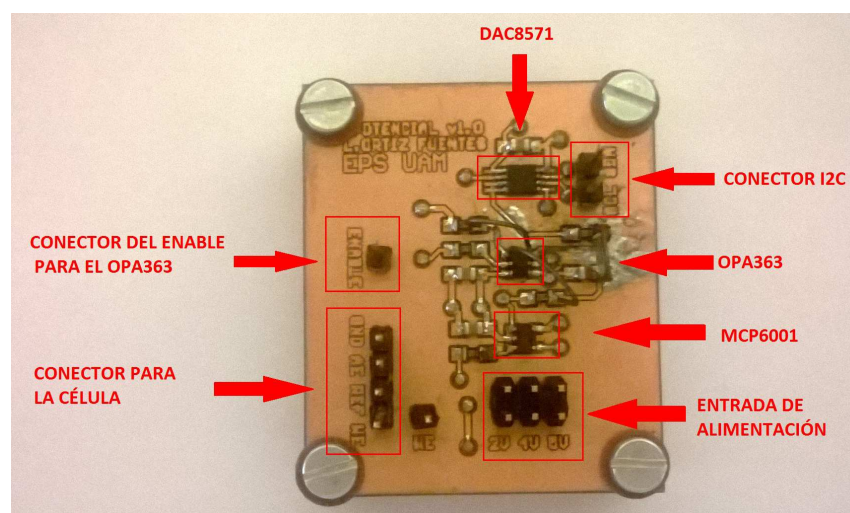


Figura 3.10: Placa de control de potencial fabricada con identificadores de los componentes.

Por última vez, la capa inferior de este PCB constituye casi en su totalidad un plano de masa.

3.4. Protocolos de comunicación

A continuación se describen los protocolos de comunicación usados, tanto para comunicar el potenciómetro con el exterior, como para comunicar el microcontrolador con los diferentes integrados que componen el diseño.

3.4.1. Comunicación interna / bus I^2C

Para comunicar el microcontrolador con los diferentes componentes del sistema (ADC, DAC y potenciómetro digital), se ha utilizado el bus de comunicaciones I^2C (*Inter-Integrated Circuit*), un bus serie, síncrono y maestro-esclavo. Fue desarrollado por *Philips* para la comunicación de dispositivos lentos en sistemas embebidos y placas base. Hay varias especificaciones del protocolo en función de la velocidad de transmisión, habiendo elegido nosotros la de 400KHz.

Para llevar a cabo la comunicación se requieren tres líneas:

- **GND:** Utilizada únicamente como referencia.
- **SDA:** Línea de datos.
- **SCL:** Línea de reloj, generada por el dispositivo maestro.

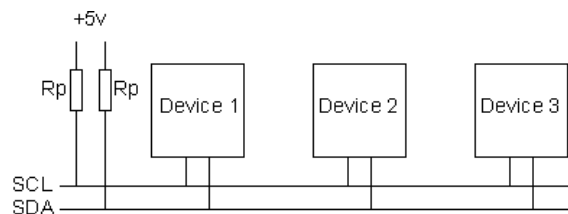


Figura 3.11: Esquema de conexión del bus I^2C .

A nivel de hardware, tanto la línea SDA como la línea SCL son en drenador abierto, por lo que es necesario el uso de resistencias de pull-up para su correcto funcionamiento.

En el bus I^2C , cada dispositivo tiene una dirección única, de modo que la selección del dispositivo a manejar se realiza mediante el direccionamiento por medio de las líneas de datos y de reloj. Este modo de direccionamiento es una ventaja frente a otros protocolos como SPI, dado que en este último, es necesario tener una línea dedicada a cada dispositivo esclavo, haciendo un mayor uso de pines del microcontrolador, y dificultando el rutado.

3.4.2. Comunicación externa / bus USB

Se ha elegido el bus USB (*Universal Serial Bus*), por su gran estandarización en el mercado, siendo casi el estándar de facto para la conexión de sistemas embebidos a PCs en local, es decir, sin hacer uso de internet.

El bus USB es un bus de comunicaciones serie, maestro-esclavo y half-dúplex, diseñado para la conexión de periféricos con el PC. Utiliza cuatro líneas:

- **VBUS:** Tensión de alimentación, 5V. Puede ser utilizada para alimentar el periférico, con un consumo máximo de 500mA.
- **D+:** Línea de datos positiva.
- **D-:** Línea de datos negativa.
- **GND:** Tensión de referencia.

Como se puede apreciar, la transmisión de datos se realiza mediante una línea diferencial. Esto se estableció así para proteger la integridad de la señal en distancias largas.

El protocolo USB se basa en la existencia de un dispositivo *host* o maestro, y un dispositivo *device* o esclavo. En nuestro caso, el *host* será el PC, y el *device* será el potencióstato.

La comunicación entre el *host* y el *device* se realiza mediante paquetes. Estando el *device* identificado mediante una dupla de valores. Estos valores son el VID (*Vendor Identifier*) y el PID (*Product Identifier*).

La funcionalidad del dispositivo viene dada por su clase. Hay una gran cantidad de clases definidas, pero las dos que nos interesan son las siguientes:

- **CDC/ACM (*Communication Device Class/Abstract Control Model*):** Esta clase emula un puerto serie, de modo que el dispositivo se comunica con el PC como si de un puerto serie se tratase, utilizando para ello como soporte una comunicación USB.
- **HID (*Human Interface Device*):** Esta clase se utiliza para dispositivos que interactúan con el ser humano. Usos habituales de esta interfaz son los teclados, ratones, joysticks, etc., aunque se trata de una interfaz extensible, por lo que puede ser perfectamente utilizada para controlar el potencióstato.

La ventaja de usar cualquiera de ambas clases frente a especificar una nueva, es que la mayoría de sistemas operativos ampliamente utilizados disponen de drivers preinstalados, capaces de soportar los dispositivos que hacen uso de estas clases, simplificando el desarrollo de la aplicación de usuario.

Para este trabajo se ha utilizado la clase CDC/ACM, por motivos de compatibilidad con el SW cedido por Inbea Biosensores, como se explicará en la sección 5.

Capítulo 4

Desarrollo del firmware

A continuación se justifica el diseño del FW desarrollado para el control del HW. Se explicará la estructura del mismo, y se indicará cuál ha sido la implementación realizada de la comunicación tanto USB como I^2C , indicando cuáles son los comandos establecidos para el manejo del HW.

4.1. Planteamiento

Para la programación del firmware del dispositivo desarrollado, se ha utilizado el lenguaje de programación C, utilizando el entorno de programación *Atmel Studio 6.1*. Para la programación del microcontrolador se ha utilizado la herramienta *FLIP*, suministrada por el propio fabricante, capaz de programar el microcontrolador utilizando el puerto USB, a través del bootloader precargado de fábrica.

El dispositivo hace uso del puerto USB, haciendo uso de la clase CDC/ACM, como ya se indicó en el apartado 3.4.2, principalmente por motivos de compatibilidad con el software que se explicará en la sección 5. De este modo, el dispositivo emula un puerto serie, recibiendo instrucciones a través de un *stream* de caracteres.

El planteamiento que se ha seguido, es que sea el software el que controle la operatividad del potenciómetro, indicándole cuándo debe medir y cuándo no, cuándo tomar dato, cuándo cambiar el potencial fijado, etc.

Para ello el potenciómetro es capaz de responder a las siguientes peticiones:

- Iniciar medición.
- Detener medición.
- Obtener medida.

- Fijar el valor de la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y de referencia.

Por motivos de depuración, es compatible con algunas peticiones más, que se comentarán en el apartado 4.4.

Así mismo, dado que el tiempo entre muestras suele ser de 0.5s en adelante, se decidió que el potencióstato, en el estado de medición, realizase mediciones cada 50ms, con el objetivo de reajustar la resistencia del amplificador de transimpedancia, impidiendo que se sature el amplificador operacional. Esta temporización se realiza mediante un timer.

También se han implementado las curvas de calibración del ADC, del DAC, y del potenciómetro digital, a partir de los resultados obtenidos en las pruebas individuales, detalladas en la sección 6.1. Este paso es importante para obtener una mayor precisión y fiabilidad.

4.2. Esquema general

Siguiendo las pautas definidas en el punto anterior, se diseñó el firmware con el siguiente esquema:

- **Inicialización:** Tras el encendido del sistema, se configura el hardware relativo USB y al bus I^2C , y se configuran los dispositivos a un estado inicial conocido, en el que el control de potencial está desactivado y no se realizan medidas. Tras esta inicialización se pasa al bucle principal del firmware.
- **Bucle principal:** En este bucle se realizan las siguientes tareas, en orden:
 - **Lectura del puerto serie:** Si hay datos en el puerto serie, se leen y se interpretan. De este modo, puede ser que el caracter recibido sea el inicio de un nuevo comando, la finalización del mismo, o un caracter más a encolar en el buffer.
 - **Actualización del valor de la intensidad:** Como se ha comentado antes, si el dispositivo esta en modo medición, el potencióstato realiza una medida cada 50ms para evitar la saturación del operacional del conversor I/V. Esta temporización se realiza mediante un timer que lanza una interrupción, pero para mantener la rutina de atención a la interrupción lo más corta posible [25], sólomente se activa un flag para indicar que se debe realizar una nueva medida, siendo tarea del bucle principal el efectuar la medición.
 - **Ejecución del comando recibido:** Si hay algún comando pendiente de ser ejecutado, se realizan las tareas oportunas, y se responde al PC enviando el mensaje oportuno.

4.3. Comunicación USB

Para gestionar la comunicación USB, se ha utilizado la librería LUFA (*Lightweight USB Framework for AVR*s). Esta librería ha sido desarrollada por Dean Martin, ingeniero en Atmel, e implementa por completo la pila USB para dispositivos AVR de 8 bits, distribuida con licencia *open-source*.

El uso de esta librería abstrae al programador de los detalles de implementación de USB, proveyendo al mismo de plantillas y ejemplos para la implementación de dispositivos de las principales clases definidas en la especificación del protocolo USB.

Por ejemplo, para la clase CDC/ACM, que es la que se ha usado en este trabajo, la librería nos permite recibir y enviar información a través del puerto serie, utilizando directamente las funciones de entrada y salida estándar del sistema. Esto evidentemente hace que la entrada y salida de datos sea extremadamente fácil de implementar.

Además, la librería también provee de ciertos eventos que se disparan al producirse ciertas condiciones. Uno de estos eventos, que ha sido utilizado en el proyecto, se dispara cuando una de las líneas de control cambia de estado. Esto ha permitido detectar cuándo el dispositivo se conecta o desconecta del host, habiendo sido utilizado para detener la captura de datos en caso de desconexión.

4.4. Comandos

A continuación, se detallan los comandos que se han establecido para el control del potencióstato. Dado que la comunicación no se realiza por paquetes, se ha definido un carácter de inicio de paquete (\$), y uno de finalización (!). De este modo, los mensajes a enviar tendrán el siguiente formato:

$$"\$" + \text{comando} + "!"$$

Donde los comandos establecidos son:

- **S:** Este comando pone al dispositivo en modo *medición*. Esto quiere decir que el controlador de potencial se activa, así como el timer del que se ha hablado anteriormente. Se responde al mensaje con el envío del comando "sX", donde X es el número de canal activado. En el prototipo desarrollado, este valor siempre es 0, pero en futuras versiones, en las que el potencióstato pueda medir más de un electrodo de trabajo a la vez, X podrá tener más valores ¹.

¹La introducción del número de canal es importante, aunque ahora pueda parecer inútil, puesto que si se desarrolla un equipo capaz de trabajar con dos electrodos de trabajo a la vez, enviando esta información se puede utilizar el mismo software de usuario tanto para unos equipos como otros.

- **P:** Saca al dispositivo del modo *medición*. Es decir, detiene el timer y desactiva el operacional del controlador de tensión. Se responde al mensaje con el envío del comando “eX”, donde X, nuevamente, es el número de canal detenido.
- **Md:** Devuelve la última medición tomada. El valor “d” indica si el valor corresponde al pretratamiento 1, al pretratamiento 2, o a la medición final. Al ejecutarse este comando, no se realiza una nueva medición, si no que se devuelve el último valor leído. Por lo tanto, los tiempos de medida son aproximados, pudiendo ser que el dato enviado corresponda a la situación de algunos milisegundos antes a la solicitud. Esto no es importante, pues a la hora de realizar las medidas, se espera a que la señal sea estable.

El comando responde enviado el mensaje de retorno “mX,i,p,t”, donde X es el número de canal, i es el valor de intensidad leído, p es el potencial aplicado en el momento de la lectura, y t es el tipo de medida (pretratamiento 1, pretratamiento 2, o medida final).

- **R:** Utilizado únicamente con fines de depuración, devuelve el valor de resistencia actualmente asignado al potenciómetro, en Ω . Responde con el envío del mensaje “rV”, donde V es el valor de la resistencia.
- **Vp:** Establece la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y de referencia. “p” indica el valor deseado en milivoltios. No envía respuesta.
- **L:** Utilizado únicamente con fines de depuración, devuelve la diferencia de potencial fijada. Devuelve el mensaje “lv”, donde “v” es el valor de potencial fijado en milivoltios.
- **W:** Utilizado únicamente con fines de depuración, indica si el potenciómetro está en modo *medición* o no. Devuelve el mensaje “w0” si no está midiendo, y “w1” en caso contrario.
- **H:** Devuelve la versión de hardware, de firmware y el número de serie del dispositivo. Implementado por motivos de compatibilidad con el software. Devuelve el mensaje “hH,F,S”, donde “H” es un *string* indicando la versión del hardware, “F” es otro *string* indicando la versión del firmware, y “S” es un entero de 4 cifras indicando el número de serie.

Capítulo 5

Desarrollo del software

En este capítulo se describen las modificaciones realizadas en el SW de Inbea Biosensores S.L. para adaptarlo al funcionamiento del nuevo hardware desarrollado. También describe el funcionamiento básico del sistema, y las futuras mejoras que se realizarán para mejorar la conexión entre el SW y el HW.

5.1. Modificaciones realizadas

El software cedido, es un programa de usuario destinado a la lectura de señales de un potencióstato, a través del puerto serie. Conocido esto, es de esperar que las modificaciones hayan sido pocas, ya que como se ha ido comentando en varios sitios, algunas decisiones de diseño, como el uso de la clase CDC/ACM que hace que un dispositivo USB emule un dispositivo serie, han sido tomadas teniendo en cuenta la compatibilidad con el software, para así poder centrarnos más en la adquisición y el tratamiento de la señal, que es el propósito principal de este trabajo.

Aún así, como es natural, ha sido necesario realizar las modificaciones a continuación citadas:

- El software cedido estaba preparado para el uso con potencióstatos de dos canales, mostrando menús para la configuración de ambos canales. Estos menús, que para nuestro prototipo no son necesarios, han sido eliminados para no confundir al usuario.
- Los comandos utilizados han variado su formato, por lo que ha sido necesario adaptar el programa para un correcto entendimiento entre el software y el hardware.
- El programa estaba preparado para un potencióstato que, una vez configurados los tiempos de medida, se encargaba de mandar periódicamente las mediciones al software. Para el prototipo diseñado, se ha modificado este enfoque, siendo

la aplicación de usuario la encargada de controlar los tiempos, solicitando al potenciostato una medida cada vez que sea necesario.

Para gestionar esto, se ha creado una nueva clase, llamada *HiloMedicion*, que hereda de la clase *Thread*, y es la encargada de controlar los tiempos de medida.

El software estaba realizado en *Java*, y se ha utilizado el entorno *NetBeans IDE 7.1* para editarlo.

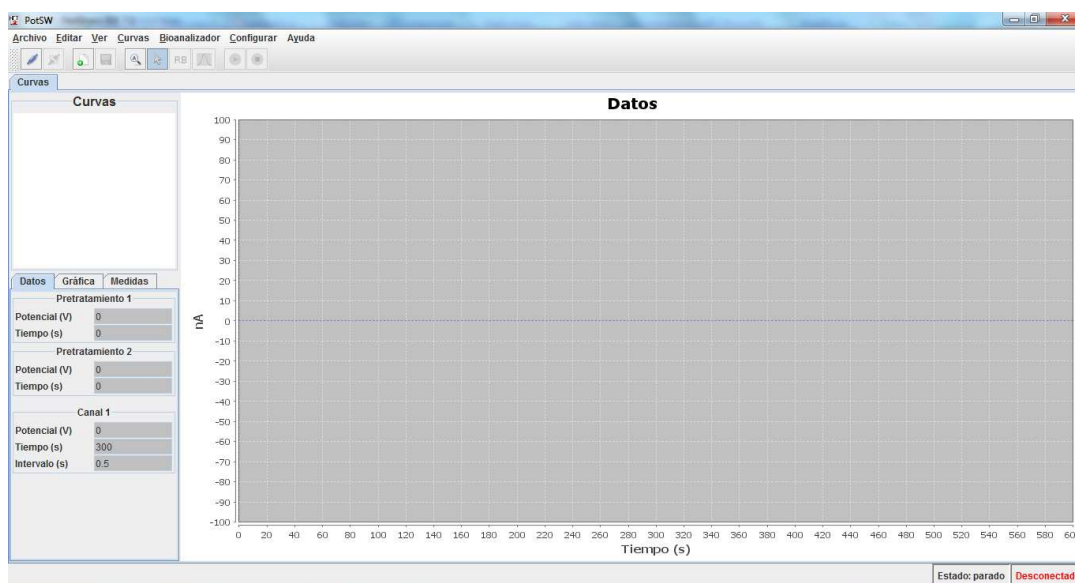


Figura 5.1: Interfaz de la aplicación de usuario.

5.2. Inconvenientes de usar el puerto serie

Como se indica en los trabajos [26] [27], el mayor problema a la hora de diseñar un software de usuario, es meterse en la piel del usuario final. En el caso que nos concierne, se trata de químicos y otro personal de laboratorio, que es de esperar no tengan un profundo conocimiento de informática. Por ello, hay que intentar ponérselo lo más fácil posible, para que la herramienta les resulte atractiva y eficiente.

En esta línea, uno de los mayores inconvenientes de usar el puerto serie, es que no hay ninguna manera segura de detectar de forma automática el puerto en el que está conectado nuestro dispositivo. Y como se ha explicado en el párrafo anterior, es difícil explicar a los posibles usuarios finales de la aplicación cómo averiguar cuál es el puerto correcto.

En el software cedido, y esto no se ha modificado, se busca el puerto de manera automática, utilizando para ello un método poco seguro. Este método consiste en conectarse uno por uno a todos los puertos disponibles, enviando un mensaje y esperando una respuesta que identifique nuestro dispositivo (de ahí el significado del

comando “H” antes explicado). El problema de este método, es que al mandar un mensaje a un dispositivo desconocido, podemos provocar comportamientos inesperados en el dispositivo, lo que puede llegar a ser realmente peligroso.

Para evitar esto, como ya se ha dicho anteriormente, la idea es utilizar en futuras versiones la clase HID definida en la especificación USB. Así, el dispositivo será visto por la aplicación como un dispositivo USB, pudiendo usar el VID y el PID para detectarlo, realizando la conexión de forma totalmente segura.

5.3. Uso

A continuación, se comentan brevemente el uso del software:

Lo primero, será tener el dispositivo conectado al PC y correctamente detectado por el sistema operativo. Tras esto, arrancamos el programa, y le damos al botón de conectar, situado en la barra superior de herramientas.

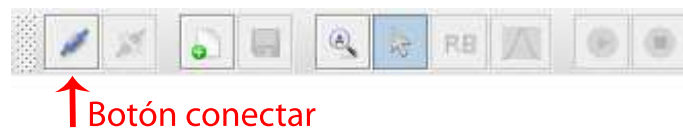


Figura 5.2: Botón de conexión.

Esperamos a que el software se conecte. Nos daremos cuenta de ello cuando la barra de herramientas pase al estado de la figura siguiente.

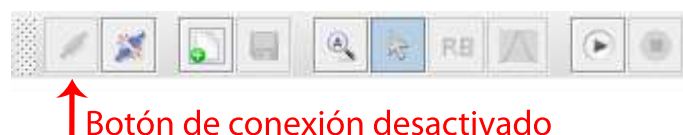
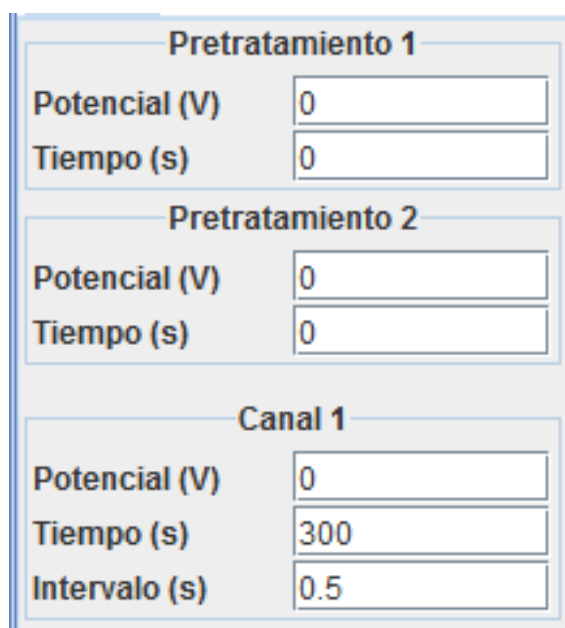


Figura 5.3: Barra de herramientas cuando el potenciómetro está conectado.

Configuramos los parámetros de medida en el panel que hay abajo a la izquierda.



Pretratamiento 1

Potencial (V)	0
Tiempo (s)	0

Pretratamiento 2

Potencial (V)	0
Tiempo (s)	0

Canal 1

Potencial (V)	0
Tiempo (s)	300
Intervalo (s)	0.5

Figura 5.4: Panel de configuración de medida.

En este panel hay que mencionar un par de cosas:

- Si los tiempos de pretratamiento 1 o de pretratamiento 2 son configurados a 0, no se ejecutará el pretratamiento correspondiente.
- Si el tiempo de medida del canal 1 se configura a 0, se medirá de manera indefinida. Es importante ser consciente de esto, pues es el funcionamiento opuesto al de los tiempos de pretratamiento.

Una vez configurados los parámetros de medida, pulsar el botón de *play*, en la barra superior de herramientas.



Figura 5.5: Botón para iniciar la medida.

De manera casi inmediata, empezará a aparecer la gráfica en la sección destinada a ello.

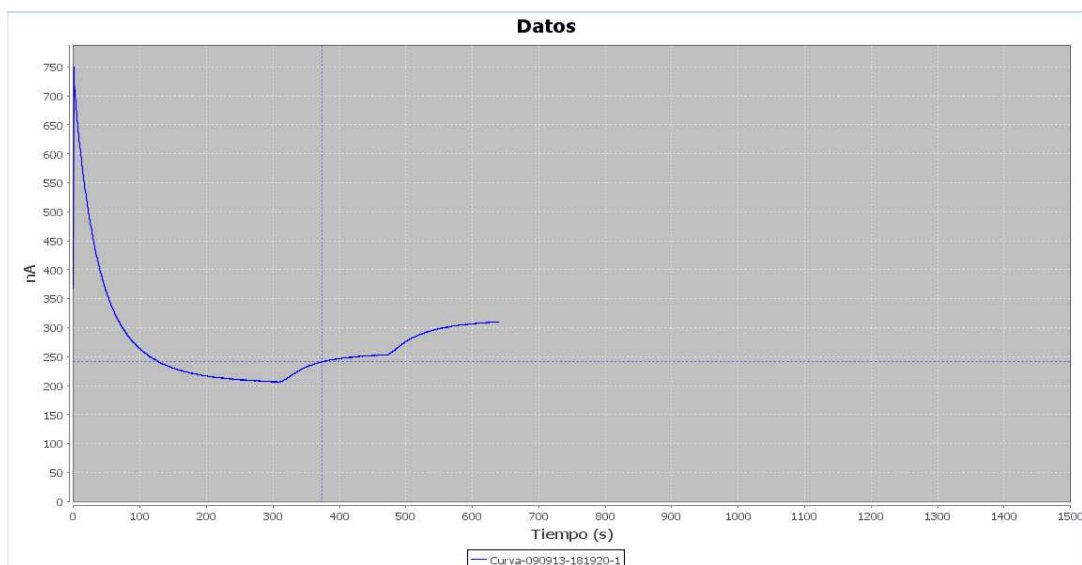


Figura 5.6: Gráfica en la que se muestran los datos capturados.

Si se desea detener la medida, pulsar en el botón *stop*, en la barra superior de herramientas.

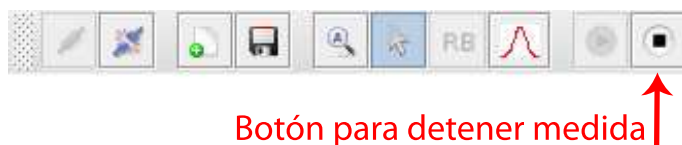


Figura 5.7: Botón para detener la medida.

Finalmente, para desconectar, pulsar el botón de desconectar, en la barra superior de herramientas.



Figura 5.8: Botón de desconexión.

Capítulo 6

Pruebas

En este capítulo se describen las pruebas que se han llevado a cabo, tanto individuales como de integración, así como los resultados de las mismas. Las pruebas se han llevado a cabo para validar el diseño, y para obtener las curvas de calibración de los integrados utilizados.

6.1. Pruebas individuales

Las primeras pruebas que se han realizado son las individuales, llevadas a cabo en el HCTLab de la Escuela Politécnica Superior. Estas pruebas validan pequeñas partes del diseño de forma individual.

6.1.1. Fuente de alimentación

Las pruebas de esta placa han sido las más sencillas, pues solamente ha sido necesario comprobar que las tensiones de salida eran las esperadas, y que la señal era estable y sin picos. Para ello se ha hecho uso del osciloscopio.

Los valores de salida fueron comprobados variando la entrada de alimentación de la placa entre 7V y 24V, para ver que se cumplía la especificación dada al inicio.

Los resultados fueron satisfactorios.

6.1.2. Microcontrolador

Las pruebas de esta otra placa también fueron bastante sencillas, y se resumen en las siguientes operaciones:

- Comprobación de que el PC detecta el microcontrolador al conectar el cable USB.
- Comprobación de que el microcontrolador se puede programar. Para ello es necesario utilizar los botones de RESET y de HWB, validando por tanto el funcionamiento de los mismos.
- Verificación del correcto funcionamiento del bus I^2C . Para ello se conectó la placa de medición de intensidad, y se programó el microcontrolador para leer datos del ADC instalado en dicha placa.

Al principio hubo problemas con la detección del microcontrolador por parte del PC, y tras comprobar con el polímetro la continuidad de todas las líneas, se pensó en la existencia de algún falso contacto, al no detectar nada extraño. Por ello, se aplicó aire caliente para resoldar los contactos, desapareciendo con ello el problema, y superando todas las pruebas satisfactoriamente.

6.1.3. Medición de intensidad

En esta placa, se han realizado las siguientes pruebas.

Calibración del ADC Para esta tarea, teniendo en cuenta que todas las pruebas se han realizado con el circuito ya completamente montado, lo que se hizo fue inyectar corriente a la entrada del amplificador de transimpedancia, mediante una fuente capaz de suministrar corrientes desde nanoamperios hasta miliamperios. Con esto se conseguía que, variando la cantidad de corriente inyectada y/o su sentido, hubiera un potencial u otro a la entrada del ADC.

Teniendo un método de variar la tensión a la entrada del ADC en todo su rango, si situó una sonda a la entrada del ADC, para conocer el valor exacto de la tensión, y compararlo con el valor leído por el ADC, obteniendo así su curva de calibración.

Con este método, se verificó el correcto funcionamiento del ADC.

Calibración del potenciómetro digital Para realizar la calibración de este dispositivo, de nuevo, se inyectó corriente de magnitud conocida a la entrada del amplificador de transimpedancia. Con esto, variando la resistencia del potenciómetro, y midiendo la tensión a la salida del amplificador mediante una sonda, sólo faltaba aplicar la ley de Ohm para obtener el valor real de resistencia, y poder así obtener la curva de calibración.

Comprobación del conversor I/V Finalmente, y teniendo ya calibrados el potenciómetro digital y el conversor ADC, sólo faltaba probarlo todo en conjunto.

Para ello se hizo de nuevo uso de la fuente de corriente, inyectando una corriente y midiendo con el ADC el valor de tensión obtenido para esa corriente.

Este valor de tensión obtenido, dividido entre el valor de la resistencia fijada, nos daba el valor de intensidad medido, que en todos los casos, entraba dentro del valor fijado y del error característico de la fuente usada.

6.1.4. Control de potencial

Para la validación de esta placa, se realizaron las siguientes pruebas.

Calibración del DAC Para este propósito, se conectó una sonda a la salida del conversor DAC, y se varió la salida del mismo en todo el rango (0V a 4V), en saltos de 0,25V. Con los datos obtenidos, se calculó la curva de calibración.

Verificación del seguidor de tensión Para verificar el seguidor de tensión, sólo hizo falta conectar una sonda a la salida y otra a la entrada del mismo. Además de, obviamente, introducir un potencial en la entrada.

Se probó a variar el potencial en el rango admitido por el amplificador operacional (0V a 4V, ya que esa es su alimentación). Uno de los resultados se puede ver en la siguiente figura.

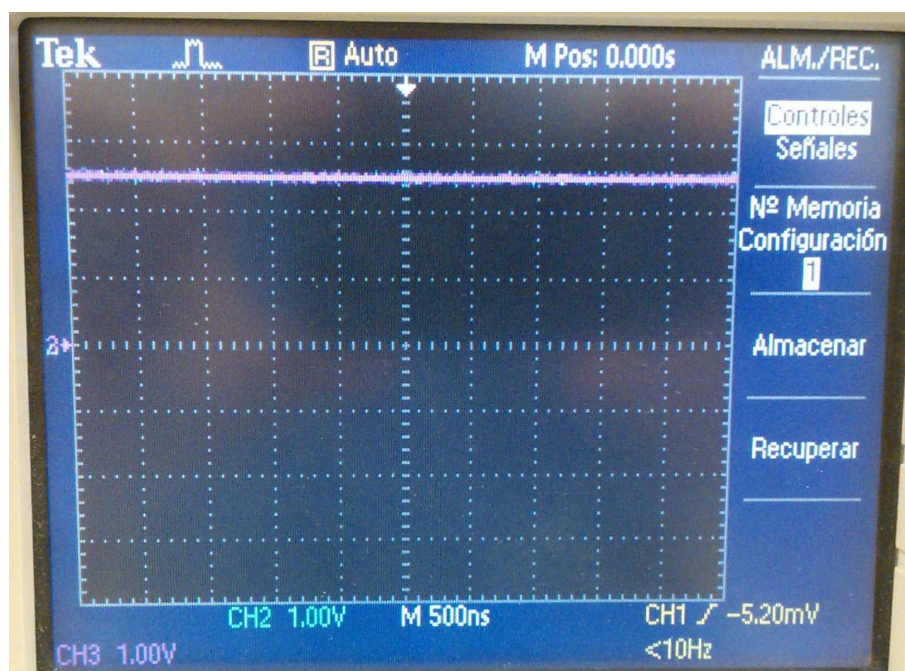


Figura 6.1: Funcionamiento del seguidor de tensión con señal en rango (azul - entrada, morado - salida).

Como se aprecia, el seguidor de tensión funciona correctamente. También se probó a introducir una señal por encima de la alimentación del operacional, obteniendo el siguiente resultado.

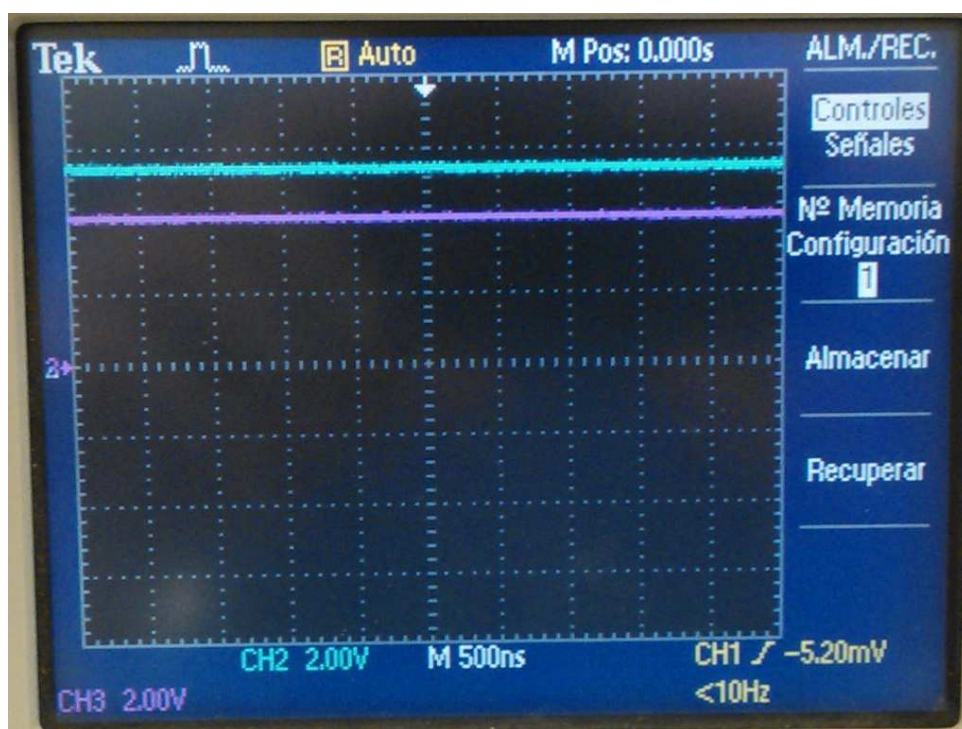


Figura 6.2: Funcionamiento del seguidor de tensión con señal fuera de rango (azul - entrada, morado - salida).

Como se aprecia en la última figura, si la entrada del operacional supera la tensión de alimentación del mismo, la tensión a la salida es inferior a la de la entrada. Este es el comportamiento correcto del sistema, y gracias a el podemos ver el funcionamiento *rail to rail* del operacional.

Verificación del controlador Para comprobar el correcto funcionamiento del controlador encargado de mantener constante la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y de referencia, se tuvieron que realizar las siguientes tareas:

- Conexión tanto de la placa de control de potencial como la de medición de intensidad (ya que es la encargada de mantener el potencial del electrodo de referencia a 2V), con el modelo de célula mostrado en la figura 3.3.4.
- Activación del *enable* del operacional de control, conectándolo a 5V.
- Desconexión del DAC del controlador, para lo que hubo que desoldar la resistencia que lo unía con el controlador, para así poder introducir en esa entrada una señal de control generada mediante un generador de ondas.

- Colocación de sondas en la entrada conectada al generador de ondas, en la conexión dónde iría conectado el electrodo de referencia, y en la conexión dónde iría conectado el electrodo de trabajo.

Una vez montado el entorno de pruebas, se realizaron dos test. El primero consistió en introducir como señal de control una señal cuadrada de 1KHz de frecuencia y amplitud 400mV, dado que según la referencia [8], esto constituía una de las pruebas más duras que se le podía hacer al controlador. El resultado se puede ver en la figura 6.1.4.

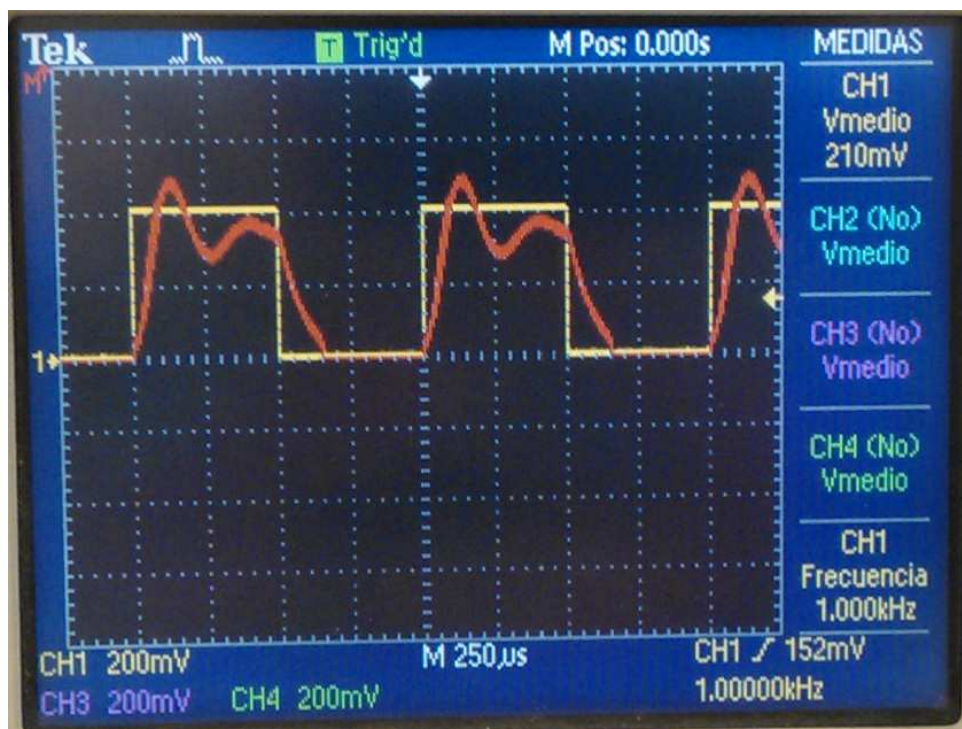


Figura 6.3: Respuesta del controlador ante señal cuadrada (amarillo - señal de control, rojo - diferencia de potencial real).

El resultado, como se puede ver en la gráfica, es bueno, pues la sobreoscilación es moderada, y parece que el sistema tiende a alcanzar la estabilidad.

El segundo test consistió en introducir una señal continua. Se probó con todo el rango posible de valores (0V a 4V). En la siguiente figura se puede ver el resultado de una de las pruebas.

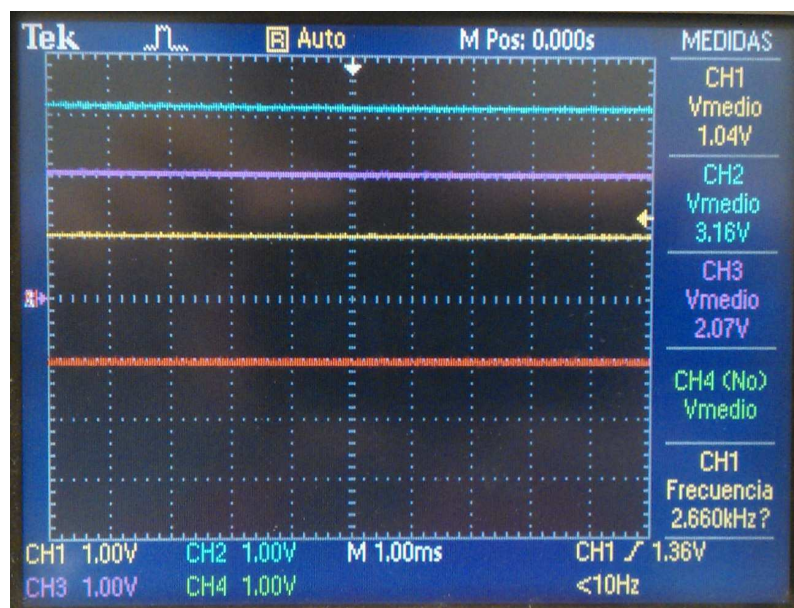


Figura 6.4: Respuesta del controlador ante señal constante (amarillo - señal de control, morado - electrodo de trabajo, azul - electrodo de referencia, verde - electrodo auxiliar, rojo - diferencia de potencial real).

A la vista de los resultados obtenidos, se concluyó que el controlador funcionaba correctamente, al menos con el modelo de célula usado.

6.2. Pruebas de integración

Una vez verificado el correcto funcionamiento de cada una de las placas por separado, sólo faltaba probarlas en conjunto en un entorno real. Para ello se realizaron varias pruebas, todas ellas en el entorno de Inbea Biosensores S.L.

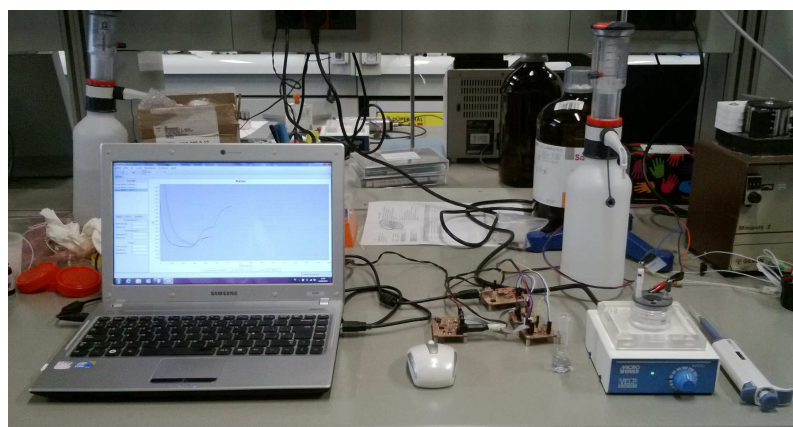


Figura 6.5: Entorno de pruebas de integración.

6.2.1. Pruebas sin R

Como se mencionó en 3.3.3.2, a la hora de diseñar el circuito de medición de corriente, se preparó para poder conectar el electrodo de trabajo de manera directa al operacional del conversor I/V, o a través de una resistencia. El funcionamiento correcto del potencióstato suponía que en ese camino no hubiera ninguna resistencia, ya que de lo contrario caería potencial, y la diferencia de potencial fijada ya no coincidiría con la real.

Las primeras pruebas se realizaron sin usar la resistencia. Activando el potencióstato, con cualquier electrodo de trabajo, se obtenían gráficas como la que se muestra a continuación, estando el electrodo en contacto con disolución buffer.

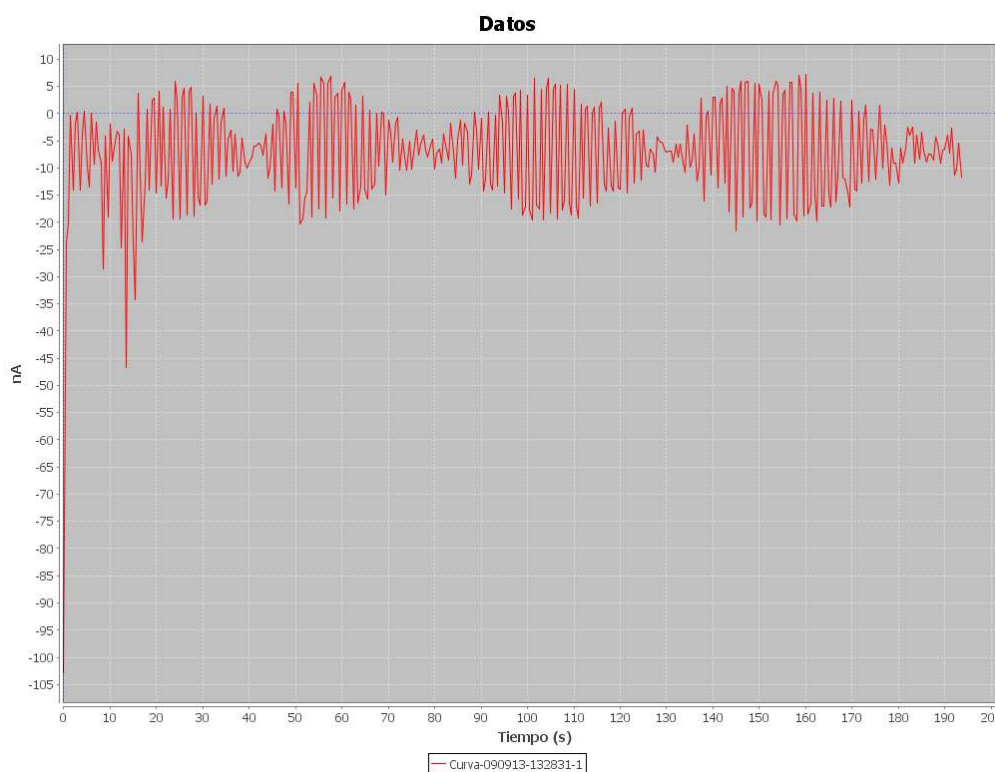


Figura 6.6: Gráfica obtenida al medir sin resistencia entre el electrodo de trabajo y la entrada del operacional del conversor I/V.

Obviamente, los resultados no eran para nada buenos, pues el sistema oscilaba, y esas oscilaciones se reflejaban en la medición, haciendo que fuese imposible medir, pues no se alcanzaba la estabilidad de la señal. Además, dada la frecuencia de la señal obtenida, y la periodicidad de la misma, se llegó rápidamente a la conclusión de que no era ruido, si no un mal funcionamiento del controlador.

6.2.2. Pruebas con R

Desanimados por los resultados obtenidos de la anterior prueba, se optó por probar el circuito interponiendo la resistencia en la conexión entre el electrodo de trabajo y el operacional del conversor I/V. Tras poner en marcha el potenciostato, se vio rápidamente que la señal era muchísimo mejor, permitiendo realizar medidas con el biosensor (aunque no hay que olvidar que de este modo la diferencia de potencial fijada no es la diferencia de potencial real).

A la vista de que de este modo era posible realizar mediciones, se decidió probar a realizar una medida con patrones y muestras reales, para analizar si el potenciostato realizaba de manera medianamente correcta su trabajo.

Para realizar estas mediciones, se utilizó un electrodo de trabajo para medir fructosa. La medición se realiza en varias fases, siendo la primera de ellas la calibración, que consta de los siguientes pasos:

- Se llena la célula con 20ml de disolución buffer, y se espera a que la señal sea estable.
- Se inyectan en célula 50 μ l de patrón con concentración de 1,80g/l, y se espera a que la señal se vuelva a estabilizar, pues se generará una meseta.
- Se repite el paso anterior.

Los pasos anteriores constituyen el calibrado (curva azul de la gráfica 6.2.2). Con esta gráfica, se sacó la recta de calibración. Para ello se usa la concentración de patrón en célula, y la altura de las mesetas obtenidas. La recta que se obtuvo fue:

$$y = 11488,89x - 1,55(R = 0,9987)$$

El coeficiente de correlación que se obtuvo era bastante bueno. El motivo de que no fuera perfecto fue que, como se puede ver en la curva de calibración, las dos mesetas no tenían la misma altura. Esto seguramente fuera motivado por la caída de potencial en la resistencia, de modo que al aumentar la señal, el potencial variaba, por lo que la velocidad de reacción también.

No obstante, se preparó una muestra con contenido conocido de fructosa para analizarla. Para preparar la muestra se utilizó el material de referencia *MUVA-KI-1102 infant food reference material*, con un contenido certificado de fructosa de $(1,06 \pm 0,03)\%$. Se pesaron 0,4683g de muestra (en realidad se intentaron pesar 0,45g), y se diluyeron en 5ml de tampón fosfato 0,05M y pH=4,5.

Se realizaron 5 medidas (resto de curvas de la gráfica 6.2.2), siguiendo los pasos mencionados a continuación:

- Se vacía la célula y se vuelve a rellenar con 20ml de disolución buffer, y se espera a que la señal sea estable.
- Se inyectan $50\mu l$ de la muestra preparada en la célula, y se espera a que la señal se estabilice.

Tomando la altura de las mesetas, interpolando en la recta de calibración, y realizando los cálculos oportunos, se obtuvo que la concentración de fructosa en la muestra era de $(1,04 \pm 0,06)\%$. Dado que el valor certificado y el valor obtenido se contienen mutuamente, se puede decir que los resultados son bastante buenos.

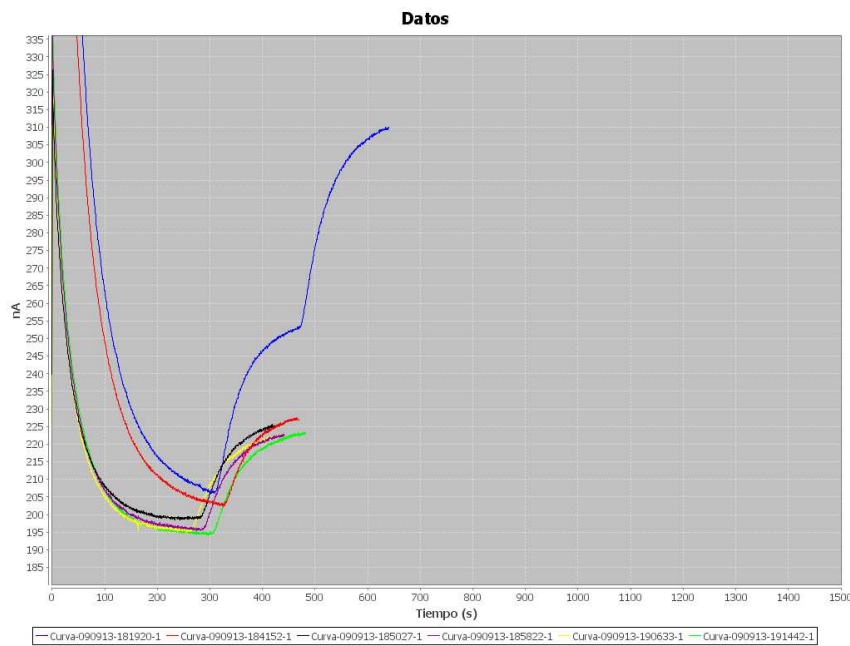


Figura 6.7: Gráficas obtenidas al realizar calibrado y medir material de referencia, usando la resistencia.

6.3. Conclusiones

Tras la realización de las pruebas, tanto individuales como de integración, se puede concluir que el sistema desarrollado responde perfectamente ante las condiciones para las que fue diseñado, pero no funciona tan bien en entornos reales. Aún así, las mediciones que se pueden obtener utilizándolo, son bastante fiables. Mediante técnicas de filtrado por software y una revisión del diseño, fabricando todo el circuito en una sola placa (evitando así problemas derivados del uso de conectores, cables entre placas, etc.), se obtendrá un diseño que cumplirá totalmente con los requisitos. Si bien, en cómputo global, se puede decir que los resultados son satisfactorios.

Capítulo 7

Conclusiones y trabajo futuro

Este capítulo pone punto y final a esta memoria, exponiendo las conclusiones extraídas a partir de los resultados obtenidos a lo largo del proyecto. También se ofrecen ideas para futuros desarrollos relacionados con el trabajo realizado.

7.1. Conclusiones

Finalizado este trabajo, se tiene un potencióstato capaz de medir la señal de un biosensor enzimático, en una célula de tres electrodos. A pesar de tener algún problema de funcionamiento, derivado de la falta de un modelo más específico de la célula, y quizás, también por los problemas ya mencionados, derivados del diseño en múltiples placas, se obtienen unos resultados bastante aceptables a la hora de realizar mediciones.

Además, al haber pensado en el trabajo futuro desde el principio, el sistema embebido diseñado es fácilmente ampliable para cumplir con los requisitos de trabajos futuros. A saber, diseño de los equipos automático y robotizado.

La realización de este proyecto también ha permitido alcanzar un mayor conocimiento acerca de electrónica, del diseño de circuitos impresos, y de la validación de diseños.

En conclusión, se ha diseñado un dispositivo que cumple de manera aceptable su cometido, siendo fácilmente ampliable para el futuro, y que con las modificaciones ya mencionadas anteriormente, podrá convertirse en un sistema totalmente fiable. Además, se han adquirido una gran cantidad de conocimientos durante toda la realización del proyecto.

7.2. Trabajo futuro

Dado que este trabajo se enmarca en un proyecto más grande, y en vista a lo comentado a lo largo de toda la memoria, hay una gran cantidad de trabajo futuro:

- **Modificación del diseño:** Como no podía ser de otro modo, en primer lugar se debería revisar el diseño para que funcione exactamente como debe. Para ello se tienen dos ideas en mente. La primera es fabricar todo el circuito en una sola placa, de manera que no haya conectores ni cables entre ellas, ya que esto facilita la introducción de ruido y/o cargas parásitas, pudiendo llegar a desestabilizar el lazo de control. La segunda idea es realizar una búsqueda más exhaustiva de modelos de la célula, con los que rediseñar el lazo de control, o medir el potencial de diferente manera, teniendo en cuenta la tensión real en el electrodo de trabajo. Mencionar que esto último complicaría bastante el diseño.
- **Modificación de la conectividad USB:** Ya se han comentado los problemas de emular un dispositivo serie, por lo que se tiene pensado cambiar la conectividad, utilizando para ello la clase HID de la especificación USB.
- **Adición de un nuevo canal:** También se comentó en la introducción. En algunos experimentos es necesario trabajar con dos electrodos de trabajo a la vez, ya que se necesitan medir dos sustancias que son complementarias. Para ello, bastará con duplicar parte del hardware, y modificar el firmware y el software.
- **Diseño y construcción del equipo automatizado:** Etapa intermedia del proyecto en general, consiste en implementar un sistema FIA (*Flow Injection Analysis*), en el que se mida de manera continua en un flujo portador, al que se adicionan periódicamente cantidades conocidas de muestra, todo ello de manera automática.
- **Diseño y construcción del equipo robotizado:** Conclusión del proyecto general, consistente en ampliar el equipo automático, de manera que se elimine por completo la intervención humana. Para ello será necesario el uso de brazos robóticos, micropipetas electrónicas, etc.

Bibliografía

- [1] J. M. Canals Bosch and F. Zamora Marín. Comparación de la eficacia analítica del biosensor para la determinación de ácido glucónico en mostos y vinos de la empresa “Biolan Microbiosensores S.L.” con el método enzimático aplicado manualmente y mediante un autoanalizador. *Revista Enología*, Año VIII Edición Marzo-Abril:1–6 a 6–6, 2010.
- [2] A.Guzmán-Vázquez de Prada, N. Peña, M.L. Mena, A.J. Reviejo, and J.M. Pingarrón. Graphite–Teflon composite bienzyme amperometric biosensors for monitoring of alcohols. *Biosensors and Bioelectronics*, 18 Issue 10:1279–1288, September 2003.
- [3] A.Guzmán-Vázquez de Prada, M.A. Ruiz, L. Ortiz, E. Vargas, J. Reviejo, J.M. Pingarrón, G. González de Rivera, and F. López-Colino. Design and development of an automated instrument for monitoring and on-line control of alcohol content in 0.0 beer by means of a biosensor-based amperometric detector. In *ANQUE ICCE 2012*, volume 14, pages 24–25, 2012.
- [4] Niina J. Ronkainen, H. Brian Halsall, and William R. Heineman. Electrochemical biosensors. *Chemical Society Reviews*, 39:1747–1763, 2010.
- [5] M. A. del Cerro, G. Cayuela, A. J. Reviejo, J. M. Pingarrón, and J. Wang. Graphite–Teflon–Peroxidase Composite Electrodes. Application to the Direct Determination of Glucose in Must and Wines. *Electroanalysis*, 9 no.14:1113–1119, 1997.
- [6] S. Campuzano, R. Gaalvez, M. Pedrero, F. J. Manuel de Villena, and J. M. Pingarrón. An integrated electrochemical fructose biosensor based on tetrathiafulvalene-modified self-assembled monolayers on gold electrodes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 377 Issue 4:600–607, 2003.
- [7] Wikipedia. celda electroquímica <http://es.wikipedia.org>.
- [8] Introduction to Potentiostats <http://www.bank-ic.de>.
- [9] J. R. Blanco, F. J. Ferrero, J. C. Campo, J. C. Antón, J. M. Pingarrón, A. J. Reviejo, and J. Manso. Design of a Low-Cost Portable Potentiostat for Amperometric Biosensors. In *IMTC - Instrumentation and Measurement*, pages 690–694, 2006.

- [10] M. Vergani, M. Carminati, and G. Ferrari. Multichannel Bipotentiostat System for Cellular Monitoring Platforms. In *Ph. D. Research in Microelectronics and Electronics (PRIME)*, 2010.
- [11] M. Mahdi Ahmadi and G. A. Jullien. Current-Mirror-Based Potentiostats for Three-Electrode Amperometric Electrochemical Sensors. *IEEE Transactions on Circuits and Systems*, 56 no.7:1339–1348, 2009.
- [12] Allen J. Bard and Larry R. Faulkner. *Electrochemical methods, fundamentals and applications*. John Wiley & Sons, 2001.
- [13] C. Liguori, V. Paciello, and A. Pietrosanto. Microcontroller based measurement unit for biosensors. In *6th International Multi-Conference on Systems, Signals and Devices*, 2009.
- [14] C. Ionescu, P. Svasta, and C. Tamas. Portable Measuring and Display Unit fo Electrochemical Sensors. In *IEEE 16th International Symposium for Design and Technology in Eelectronic Packaging (SIITME)*, 2010.
- [15] BioLogic Science Instruments. Potentiostat stability mystery explained. Technical report, BioLogic Science Instruments, unknown.
- [16] E. Vargas, M. Gamella, S. Campuzano, A. Guzmán-Vázquez de Prada, M. A. Ruiz, A. J. Reviejo, and J. M. Pingarrón. Development of an integrated electrochemical biosensor for sucrose and its implementation in a continuous flow system for the simultaneous monitoring of sucrose, fructose and glucose. *Talanta*, 105:93–100, 2013.
- [17] A. Sánchez Arribasa, M. Martínez-Fernández, M. Moreno, E. Bermejo, A. Zarpardiel, and M. Chicharro. Analysis of total polyphenols in wines by FIA with highly stable amperometric detection using carbon nanotube-modified electrodes. *Food Chemistry*, 136 Issue: 3-4:1183–1192, 2013.
- [18] Motorola. System design and layout techniques for noise reduction in MCU-based systems. *Microprocessors and microsystems*, 20. Issue:5:303–309, 1996.
- [19] P. Chand, B. N. Gangopadhyay, and M. Kumar. PCB Layout Design for EMI/EMC Compliance. In *9th International Conference on Electromagnetic Interference and Compatibility*, pages 19–24, Unknown.
- [20] M. Aamir and M. Faizan Saleem. Analysis of Noise Reduction Techniques in Embedded Systems. In *National Conference on Emerging Technologies*, pages 71–77, 2004.
- [21] S. Ardalan and M. Sachdev. An overview of substrate noise reduction techniques. In *5th international symposium on quality electronic design (ISQED)*, pages 291–296, 2004.
- [22] Devender and S. R. Ramasamy. An overview of EMI shielding and suppression materials. In *Proceedings of the international conference on electromagnetic interference and compatibility*, pages 459–466, 1997.

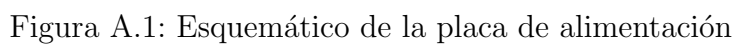
-
- [23] Henry W. Ott. *Noise reduction techniques in electronic systems*. John Wiley & Sons, 1987.
 - [24] Atmel. *Atmel AVR042: AVR Hardware Design Considerations*. Atmel, 2011.
 - [25] Jack Ganssle. *The art of designing embedded systems*. Elsevier, 2008.
 - [26] M. Urbano Cuadrado, M. D. Luque de Castro, and M. A. Gómez-Nieto. Trigger-based concurrent control system for automating analytical processes. *Trends in Analytical Chemistry*, 23:370–384, 2004.
 - [27] M. Urbano Cuadrado, M. D. Luque de Castro, and M. A. Gómez-Nieto. Object-oriented techniques for design and development of standard software solutions in automation and data management in analytical chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, 25:66–75, 2006.

Parte II

Apéndices

Apéndice A

Esquemáticos desarrollados



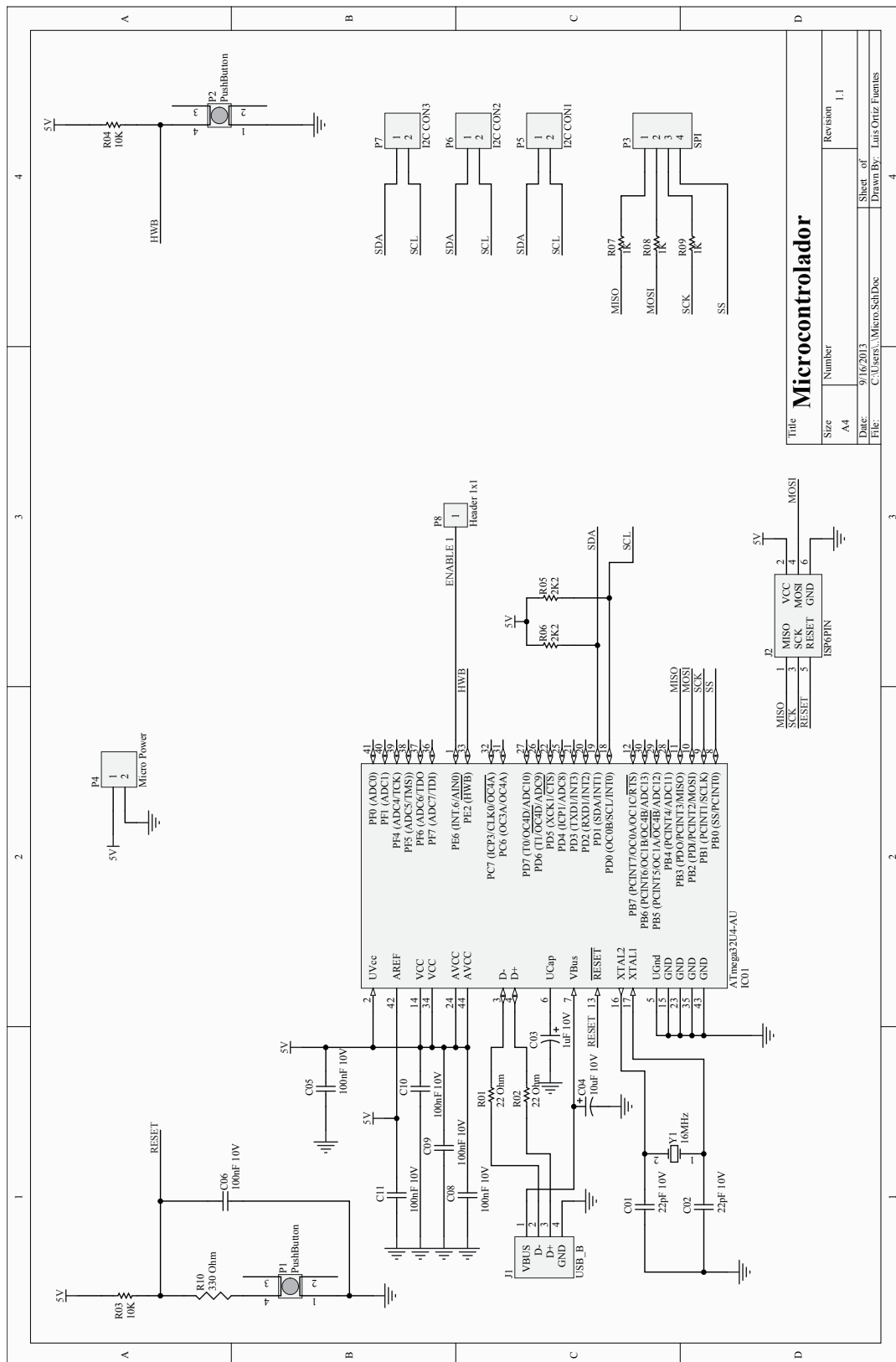


Figura A.2: Esquemático de la placa del microcontrolador

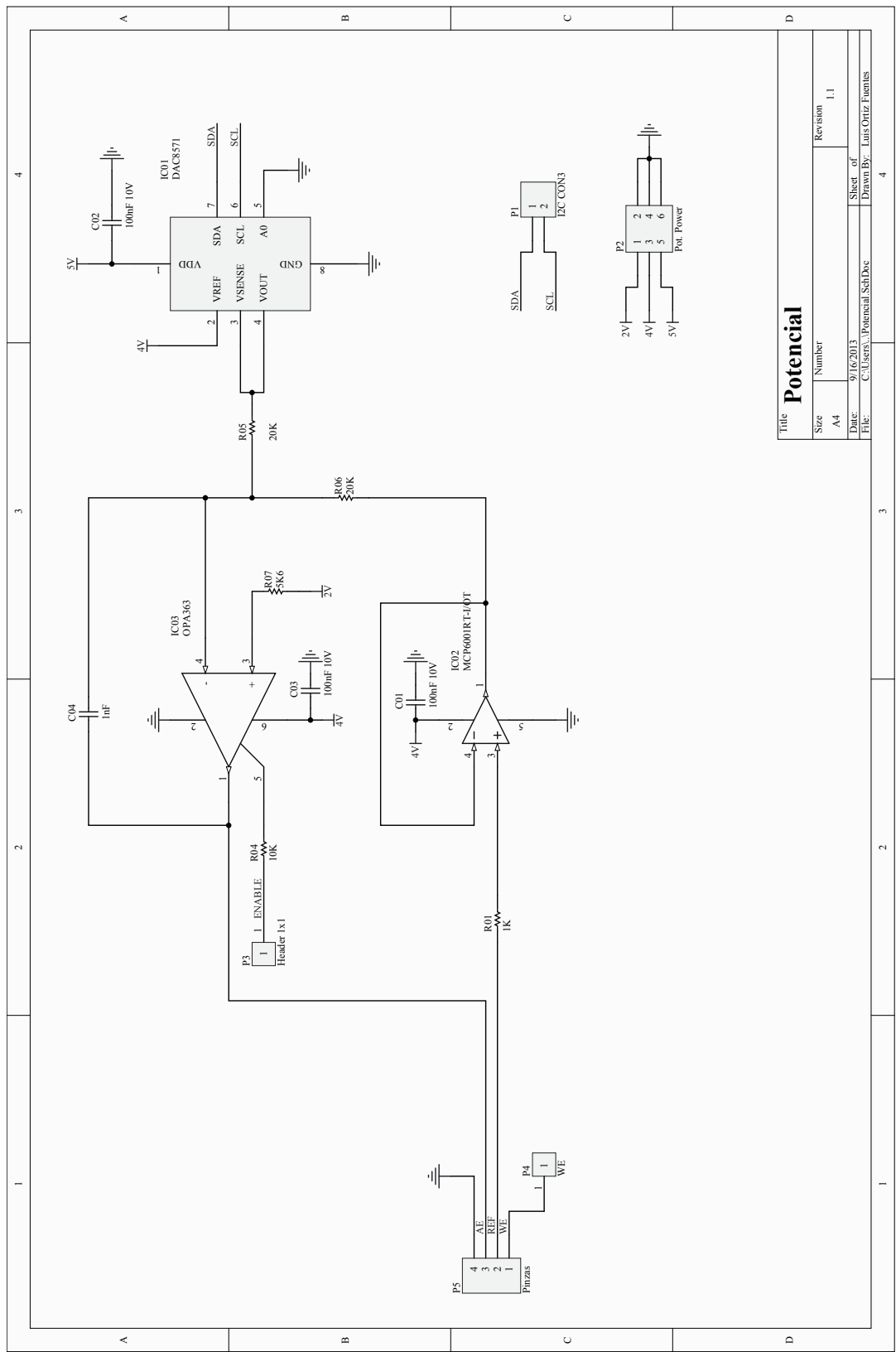


Figura A.3: Esquemático de la placa de control de potencial

Apéndice B

PCBs desarrollados

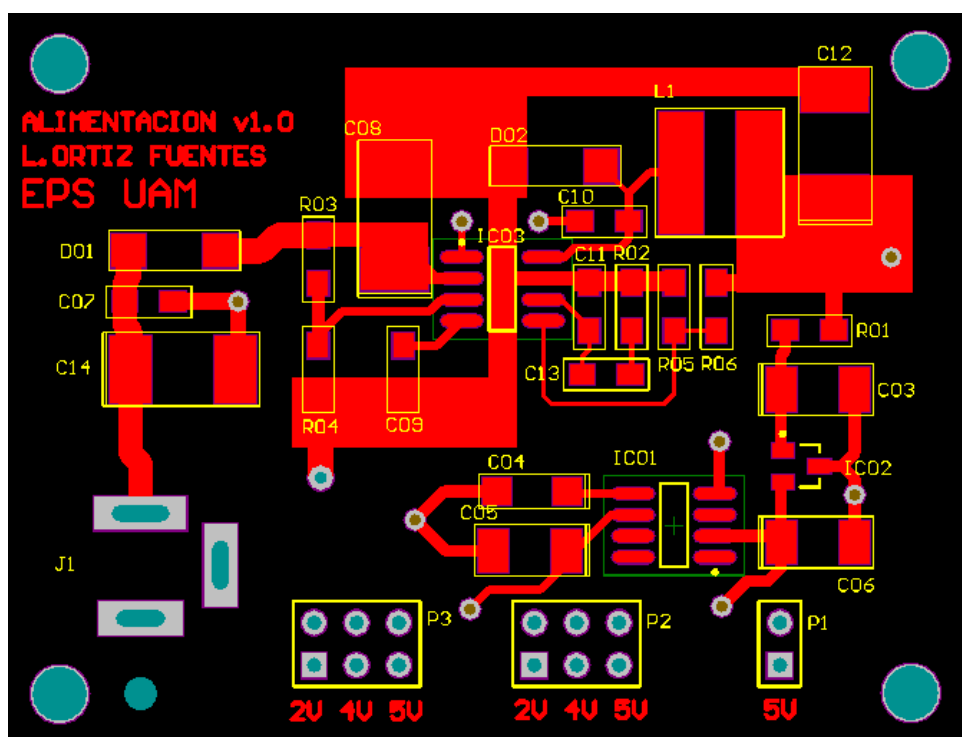


Figura B.1: Capa superior de la placa de alimentación.

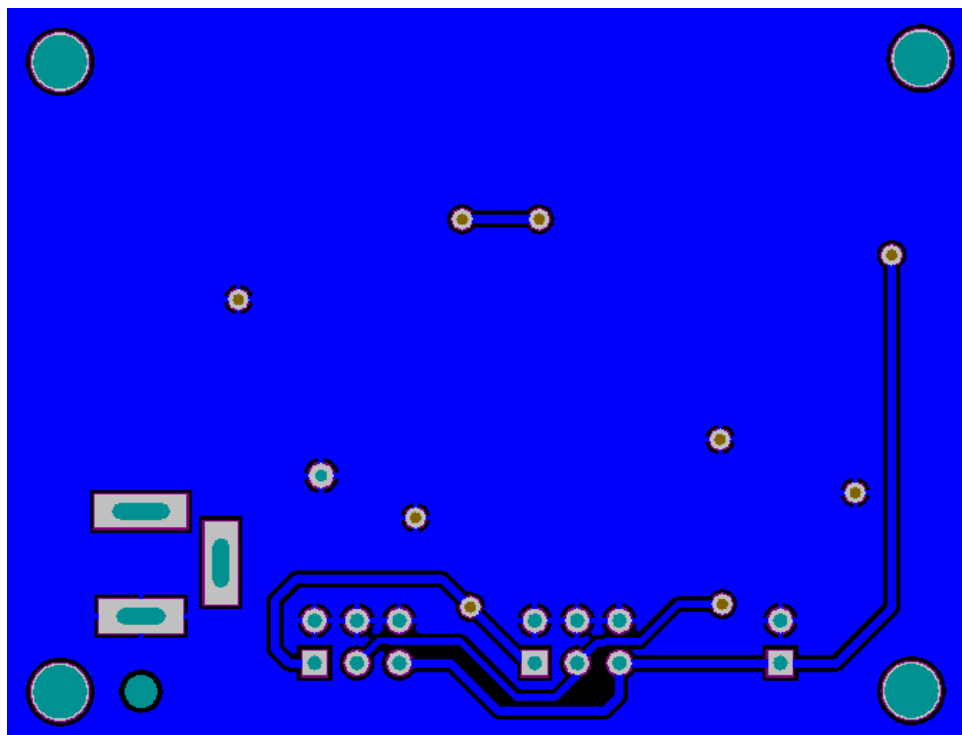


Figura B.2: Capa inferior de la placa de alimentación.

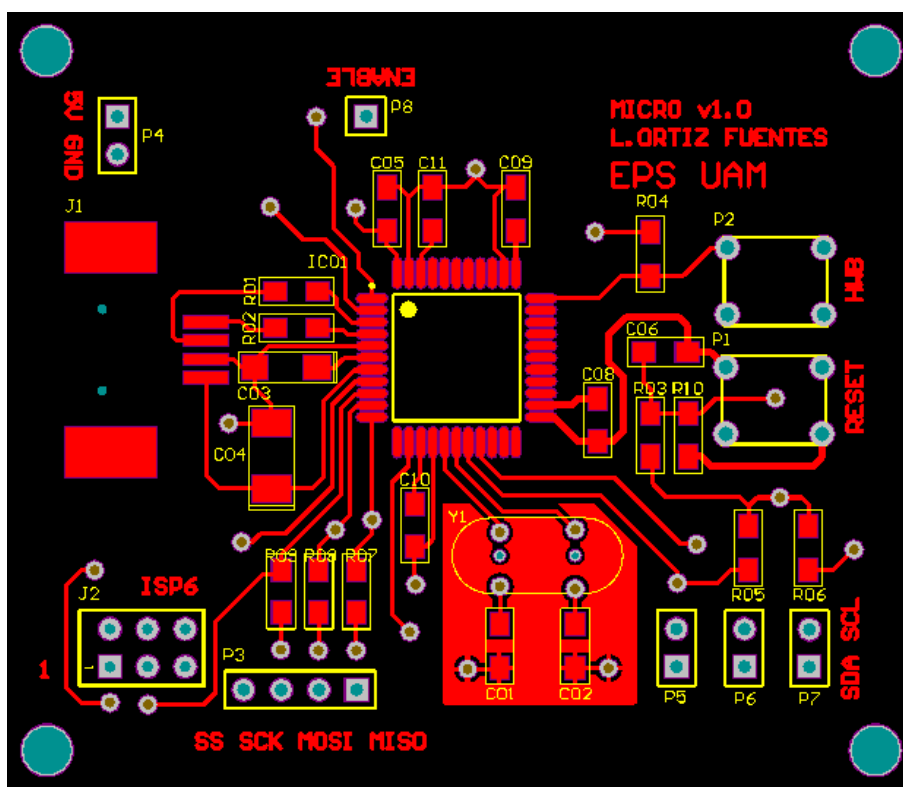


Figura B.3: Capa superior de la placa del microcontrolador.

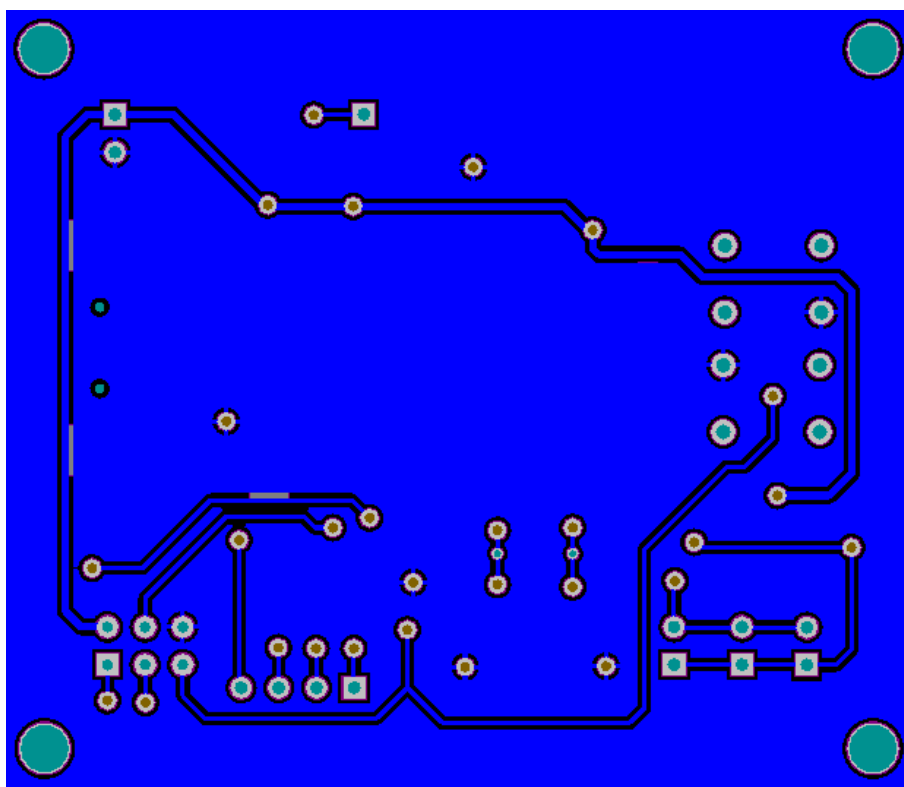


Figura B.4: Capa inferior de la placa del microcontrolador.

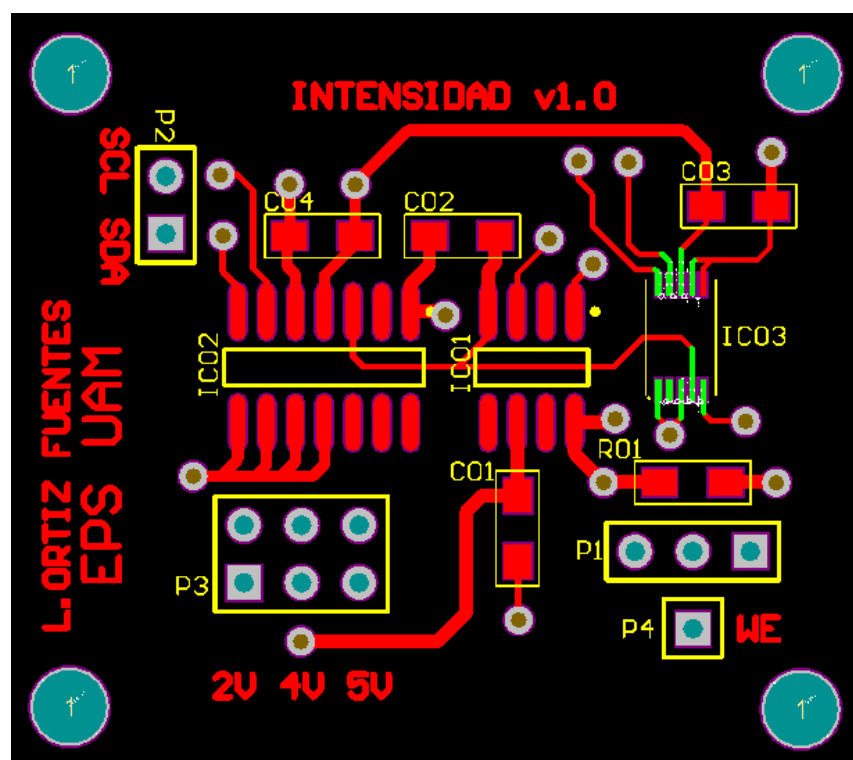


Figura B.5: Capa superior de la placa de medición de intensidad.

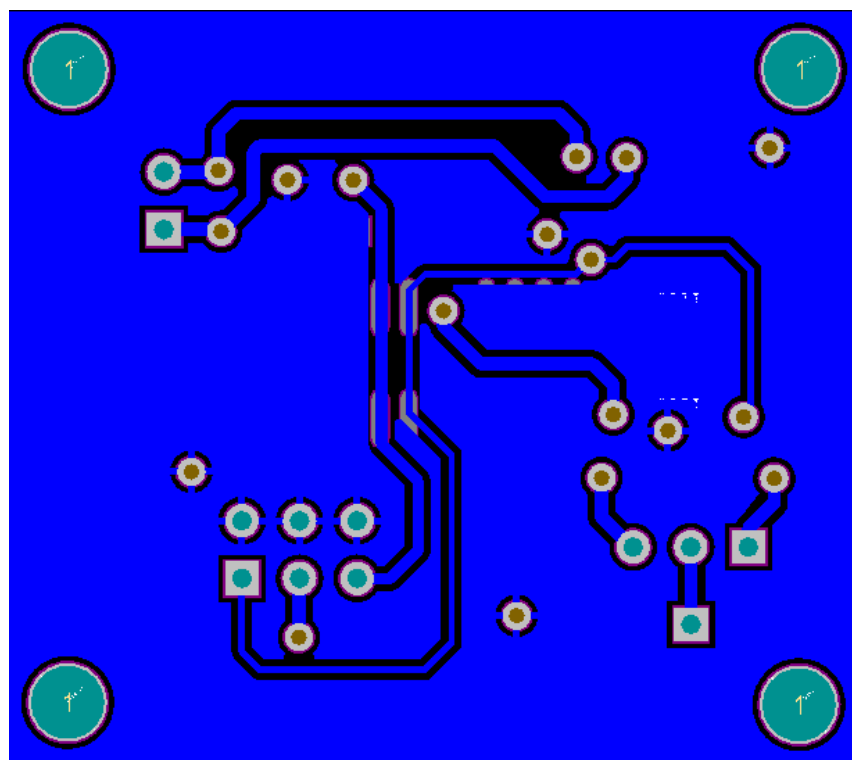


Figura B.6: Capa inferior de la placa de medición de intensidad.

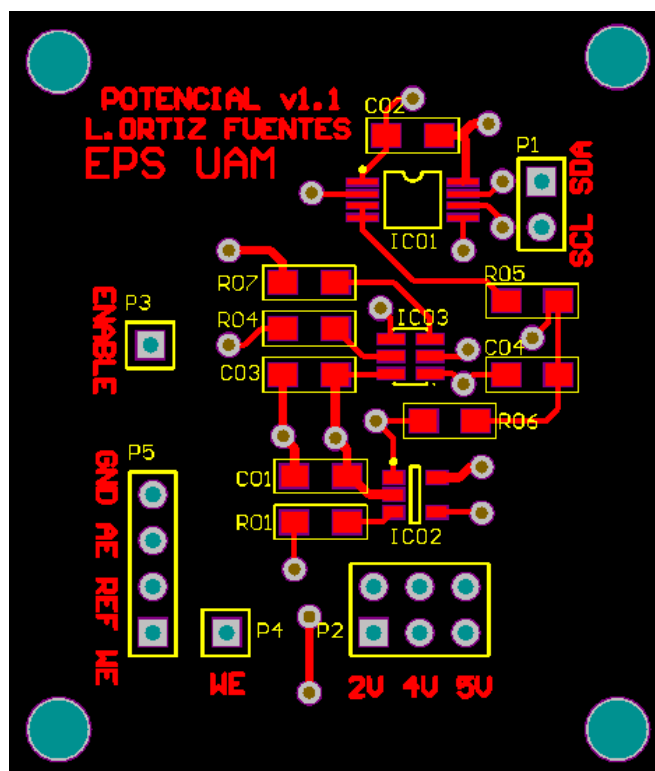


Figura B.7: Capa superior de la placa de control del potencial.

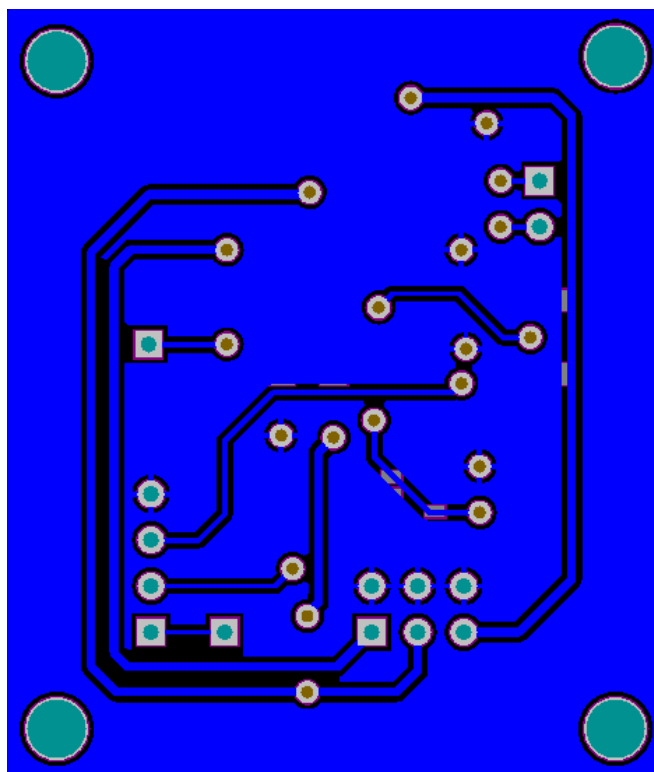


Figura B.8: Capa inferior de la placa de control del potencial.